

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/024931 A2

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
25. März 2004 (25.03.2004)

PCT

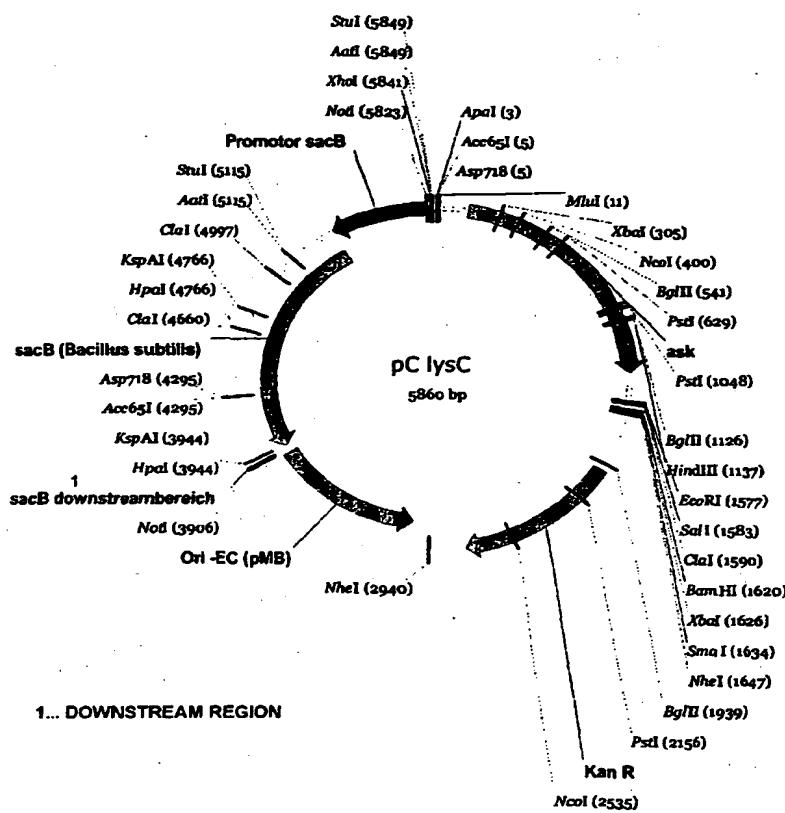
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/024931 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12P 13/04, 13/12
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/009451
- (22) Internationales Anmeldedatum: 26. August 2003 (26.08.2003)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 102 39 308.7 27. August 2002 (27.08.2002) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): BASF AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; .., 67056 Ludwigshafen (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): KRÖGER, Burkhard [DE/DE]; Im Waldhof 1, 67117 Limburgerhof (DE). ZELDER, Oskar [DE/DE]; Franz-Stützel-Str. 8, 67346 Speyer (DE). KLOPPROGGE, Corinna [DE/DE]; Rastatter Str. 10, 68239 Mannheim (DE). SCHRÖDER, Hartwig [DE/DE]; Benzstr. 4, 69226 Nußloch (DE). HÄFNER, Stefan [DE/DE]; Luitpoldstr. 11, 67063 Ludwigshafen (DE).
- (74) Anwalt: KINZEBACH, Werner; Reitstötter, Kinzebach & Partner (GbR), Sternwartstr. 4, 81679 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION BY FERMENTATION OF SULPHUR-CONTAINING FINE CHEMICALS (METF)

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR FERMENTATIVEN HERSTELLUNG SCHWEFELHALTIGER FEINCHEMIKALIEN (METF)



(57) Abstract: The invention relates to methods for the production by fermentation of sulphur-containing fine chemicals, in particular L-methionine, using bacteria in which a nucleic acid sequence coding for a methionine synthase gene (metF) is expressed.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für ein Methionin-Synthase (metF)-Gen kodierende Nukleotidsequenz exprimiert wird.



GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Verfahren zur fermentativen Herstellung schwefelhaltiger Feinchemikalien (METF)**Beschreibung**

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen
5 Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für
ein Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Gen kodierende Nukleotidsequenz exprimiert
wird.

Stand der Technik

10 Schwefelhaltige Feinchemikalien, wie zum Beispiel Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-
Methionin, Glutathion, Cystein, Biotin, Thiamin, Liponsäure werden über natürliche Stoffwech-
selprozesse in Zellen hergestellt und werden in vielen Industriezweigen verwendet, einschließ-
lich der Nahrungsmittel-, Futtermittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie. Diese Sub-
15 stanzen, die zusammen als "schwefelhaltige Feinchemikalien" bezeichnet werden, umfassen
organische Säuren, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Vitamine
und Cofaktoren. Ihre Produktion erfolgt am zweckmäßigsten im Großmaßstab mittels Anzucht
von Bakterien, die entwickelt wurden, um große Mengen der jeweils gewünschten Substanz zu
produzieren und sezernieren. Für diesen Zweck besonders geeignete Organismen sind coryne-
20 forme Bakterien, gram-positive nicht-pathogene Bakterien.

Es ist bekannt, dass Aminosäuren durch Fermentation von Stämmen coryneformer Bakterien,
insbesondere *Corynebacterium glutamicum*, hergestellt werden. Wegen der großen Bedeutung
wird ständig an der Verbesserung der Herstellverfahren gearbeitet. Verfahrensverbesserungen
25 können fermentationstechnische Maßnahmen, wie zum Beispiel Rührung und Versorgung mit
Sauerstoff, oder die Zusammensetzung der Nährmedien, wie zum Beispiel die Zuckerkonzenta-
tion während der Fermentation, oder die Aufarbeitung zum Produkt, beispielsweise durch Ione-
naustauschchromatographie, oder die intrinsischen Leistungseigenschaften des Mikroorganis-
mus selbst betreffen.

30 Über Stammselektion sind eine Reihe von Mutantenstämmen entwickelt worden, die ein Sorti-
ment wünschenswerter Verbindungen aus der Reihe der schwefelhaltigen Feinchemikalien pro-
duzieren. Zur Verbesserung der Leistungseigenschaften dieser Mikroorganismen hinsichtlich der
Produktion eines bestimmten Moleküls werden Methoden der Mutagenese, Selektion und Mut-
35 antenauswahl angewendet. Dies ist jedoch ein zeitaufwendiges und schwieriges Verfahren. Auf
diese Weise erhält man z.B. Stämme, die resistent gegen Antimetabolite, wie z. B. die Methio-
nin-Analoga α-Methyl-Methionin, Ethionin, Norleucin, N-Acetylnorleucin, S-
Trifluoromethylhomocystein, 2-Amino-5-heptenoitsäure, Seleno-Methionin, Methioninsulfoximin,

Methoxin, 1-Aminocyclopentan-Carboxylsäure oder auxotroph für regulatorisch bedeutsame Metabolite sind und schwefelhaltige Feinchemikalien, wie z. B. L-Methionin, produzieren.

Seit einigen Jahren werden ebenfalls Methoden der rekombinanten DNA-Technik zur Stamm-
5 verbesserung von L-Aminosäure produzierender Stämme von *Corynebacterium* eingesetzt, in-
dem man einzelne Aminosäure-Biosynthesegene amplifiziert und die Auswirkung auf die Amino-
säure-Produktion untersucht.

Kurze Beschreibung der Erfindung

10 Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, ein neues Verfahren zur verbesserten fermentativen Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, bereitzustellen.

15 Gelöst wird obige Aufgabe durch Bereitstellung eines Verfahrens zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, umfassend die Expression einer heterologen Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, in einem coryneformen Bakterium.

Ein erster Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:

- 20 a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Aktivität kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der
25 Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie, welche vorzugsweise L-Methionin umfasst.

30 Vorzugsweise besitzt obige heterologe metF-kodierende Nukleotidsequenz zur metF-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie von weniger als 100%, wie z.B. mehr als 70%, wie 75, 80, 85, 90 oder 95 %, oder weniger als 70%, wie z.B. bis zu 60, 50, 40, 30, 20 oder 10 %. Die metF-kodierende Sequenz ist vorzugsweise aus einem der folgenden Organismen von Liste I abgeleitet:

Liste I

Organismsus	Stammsammlung
<i>Corynebacterium diphтерiae</i>	ATCC 14779
<i>Streptomyces lividans</i>	ATCC 19844
<i>Streptomyces coelicolor</i>	ATCC 10147
<i>Aquifex aeolicus</i>	DSM 6858
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416
<i>Nitrosomonas europaea</i>	ATCC 19718
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 17933
<i>Xylella fastidiosa</i>	ATCC 35881
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	ATCC 24969
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 10751
<i>Erwinia carotovora</i>	ATCC 15713
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700721
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 12839
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 15277
<i>Escherichia coli K12</i>	ATCC55151
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 39315
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 51907
<i>Caulobacter crescentus</i>	ATCC 19089
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	ATCC 33384
<i>Neisseria meningitis</i>	ATCC 6253
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	ATCC 11166
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560
<i>Lactococcus lactis</i>	ATCC 7962
<i>Prochlorococcus marinus</i>	PCC7118
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	ATCC 12980

5 ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA

PCC: Pasteur Culture Collection of Cyanobacteria. Paris Frankreich

DSM: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

10 Die erfindungsgemäß eingesetzte metF-kodierende Sequenz umfasst vorzugsweise eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, umfasst.

15 Die erfindungsgemäß eingesetzte metF-kodierende Sequenz kodiert außerdem vorzugsweise für ein Protein mit metF-Aktivität, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52

und 54 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität steht.

5 Die kodierende metF-Sequenz ist vorzugsweise eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt, indem man

10 a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metF-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metF-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde.

15 Es ist weiterhin bevorzugt, die kodierende metF-Sequenz für die Fermentation zu überexprimieren.

Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie 20 verstärkt ist; und / oder

in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie durch Stoffwechselmetabolite in seiner Aktivität nicht in unerwünschter Weise beeinflusst wird. 25

Gemäß einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden deshalb coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt 30 unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,
- b) dem für eine Aspartat-Semialdehyd-Dehydrogenase kodierenden Gen asd
- c) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,
- d) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,
- e) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,
- f) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,
- g) dem für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierenden Gen metA,

- 5 h) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,
 i) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,
 j) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,
 k) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierenden Gen metY,
 l) dem für die Methionin Synthase kodierenden Gen metH,
 m) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierenden Gen serC
 n) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodierenden Gen serB,
 o) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodierenden Gen cysE,
 p) dem für die Homoserin-Dehydrogenase kodierenden Gen hom,

10 überexprimiert ist.

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene ausgewählt unter Genen der oben genannten Gruppe a) bis p) mutiert ist, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden und dass insbesondere die erfindungsgemäße Produktion der Feinchemikalie nicht beeinträchtigt wird.

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- 20 q) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,
 r) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,
 s) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC
 t) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh
 u) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,
 v) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgi,
 w) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,
 x) dem für die Dihydridopicolinat Synthase kodierenden Gen dapA,
 y) dem für die Dihydridopicolinat Reduktase kodierenden Gen dapB; oder
 z) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen lysA

30 abschwächt ist, insbesondere durch Verringerung der Expressionsrate des korrespondierenden Gens.

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene der obigen Gruppen q) bis z) mutiert ist, so dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird.

Vorzugsweise werden in dem erfindungsgemäßen Verfahren Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* eingesetzt.

- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methioninhaltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst
- 5 a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
- 10 b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
- c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
- d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.

Gegenstand der Erfindung sind ebenfalls die erstmalig aus obigen Mikroorganismen isolierten 15 kodierenden metF-Sequenzen, die davon kodierten metF-Enzyme sowie die funktionalen Homologen dieser Polynukleotide bzw. Proteine.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

- 20 a) Allgemeine Begriffe

Als Proteine mit der Aktivität der Methylentetrahydrofolat-Reduktase werden solche Proteine beschrieben, die in der Lage sind 5,10-Methylenetetrahydrofolat ($\text{CH}_2\text{-H(4)Folat}$) unter Oxidation des Cofaktors NADH oder NADPH zu 5-Methyltetrahydrofolat ($\text{CH}_3\text{-H(4)Folat}$) zu reduzieren.

Dem Fachmann sind weitere Details des metF Proteins bekannt: (Matthews RG, Sheppard C, Goulding C. European Journal of Pediatrics. 157 Suppl 2:S54-9, 1998, Trimmer EE, Ballou DP, Matthews RG. Biochemistry. 40(21):6205-15, 2001). Der Fachmann kann die enzymatische Aktivität von metF durch Enzymtests nachweisen, Vorschriften dafür können sein: Matthews, R.G., Methylenetetrahydrofolate reductase from pig liver. Methods in Enzymology. 122:372-81, 1986.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Begriff „schwefelhaltige Feinchemikalie“ jegliche chemische Verbindung, die wenigstens ein Schwefelatom kovalent gebunden enthält 35 und durch ein erfindungsgemäßes Fermentationsverfahrens zugänglich ist. Nichtlimitierende Beispiele dafür sind Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, insbesondere Methionin, und S-Adenosyl-Methionin.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfassen die Begriffe „L-Methionin“, „Methionin“, Homocystein und S-Adenosylmethionin auch die korrespondierenden Salze, wie z. B. Methionin-Hydrochlorid oder Methionin-Sulfat.

5 "Polynukleotide" bezeichnet im allgemeinen Polyribonukleotide (RNA) und Polydeoxyribonukleotide (DNA), wobei es sich um nicht modifizierte RNA oder DNA oder modifizierte RNA oder DNA handeln kann.

Unter "Polypeptiden" versteht man erfindungsgemäß Peptide oder Proteine, die zwei oder mehr
10 über Peptidbindungen verbundene Aminosäuren enthalten.

Der Begriff „Stoffwechselmetabolit“ bezeichnet chemische Verbindungen, die im Stoffwechsel von Organismen als Zwischen- oder auch Endprodukte vorkommen und die neben ihrer Eigenschaft als chemische Bausteine auch modulierende Wirkung auf Enzyme und ihre katalytische
15 Aktivität haben können. Dabei ist aus der Literatur bekannt, dass solche Stoffwechselmetabolite sowohl hemmend als auch stimulierend auf die Aktivität von Enzymen wirken können (Biochemistry, Stryer, Lubert, 1995 W. H. Freeman & Company, New York, New York.). In der Literatur ist auch beschrieben, dass es möglich ist durch Maßnahmen wie Mutation der genomischen DNA durch UV-Strahlung, ionisierender Strahlung oder mutagene Substanzen und nachfolgender Selektion auf bestimmte Phänotypen in Organismen solche Enzyme zu produzieren, in denen die Beeinflussung durch Stoffwechselmetabolite verändert wurde (Sahm H. Eggeling L. de Graaf AA. Biological Chemistry 381(9-10):899-910, 2000; Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94). Diese veränderten Eigenschaften können auch durch gezielte Maßnahmen erreicht werden. Dabei ist dem Fachmann bekannt, dass in Genen
20 für Enzyme bestimmte Nukleotide der für das Protein kodierenden DNA gezielt verändert werden können, so dass das aus der exprimierten DNA-Sequenz resultierende Protein bestimmte neue Eigenschaften aufweist, so zum Beispiel, dass die modulierende Wirkung von Stoffwechselmetaboliten gegenüber dem nicht veränderten Protein verändert ist.

30 Enzyme können derart in ihrer Aktivität beeinflusst werden, dass es zu einer Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit, oder zu einer Veränderung der Affinität gegenüber dem Substrat oder zu einer Änderung der Reaktionsgeschwindigkeiten kommt.

Die Begriffe "exprimieren" bzw. "Verstärkung" oder „Überexpression“ beschreiben im Kontext der
35 Erfindung die Produktion bzw. Erhöhung der intrazellulären Aktivität eines oder mehrerer Enzyme in einem Mikroorganismus, die durch die entsprechende DNA kodiert werden. Dazu kann man beispielsweise ein Gen in einen Organismus einbringen, ein vorhandenes Gen durch ein anderes Gen ersetzen, die Kopienzahl des Gens bzw. der Gene erhöhen, einen starken Promo-

tor verwenden oder ein Gen verwenden, das für ein entsprechendes Enzym mit einer hohen Aktivität kodiert und man kann gegebenenfalls diese Maßnahmen kombinieren.

b) Erfindungsgemäß metF-Proteine

5

Erfindungsgemäß mit umfasst sind ebenfalls „funktionale Äquivalente“ der konkret offenbarten metF-Enzyme aus Organismen obiger Liste I.

10 „Funktionale Äquivalente“ oder Analoga der konkret offenbarten Polypeptide sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung davon verschiedene Polypeptide, welche weiterhin die gewünschte biologische Aktivität, wie z.B. Substratspezifität, besitzen.

15 Unter „funktionalen Äquivalenten“ versteht man erfindungsgemäß insbesondere Mutanten, welche in wenigstens einer der oben genannten Sequenzpositionen eine andere als die konkret genannte Aminosäure aufweisen aber trotzdem eine der oben genannten biologischen Aktivitäten besitzen. „Funktionale Äquivalente“ umfassen somit die durch eine oder mehrere Aminosäure-Additionen, -Substitutionen, -Deletionen und/oder -Inversionen erhältlichen Mutanten, wobei die genannten Veränderungen in jeglicher Sequenzposition auftreten können, solange sie zu einer Mutante mit dem erfindungsgemäßigen Eigenschaftsprofil führen. Funktionale Äquivalenz ist insbesondere auch dann gegeben, wenn die Reaktivitätsmuster zwischen Mutante und unverändertem Polypeptid qualitativ übereinstimmen, d.h. beispielsweise gleiche Substrate mit unterschiedlicher Geschwindigkeit umgesetzt werden.

25 „Funktionale Äquivalente“ umfassen natürlich auch Polypeptide welche aus anderen Organismen zugänglich sind, sowie natürlich vorkommende Varianten. Beispielsweise lassen sich durch Sequenzvergleich Bereiche homologer Sequenzregionen festlegen und in Anlehnung an die konkreten Vorgaben der Erfindung äquivalente Enzyme ermitteln.

30 „Funktionale Äquivalente“ umfassen ebenfalls Fragmente, vorzugsweise einzelne Domänen oder Sequenzmotive, der erfindungsgemäßigen Polypeptide, welche z.B. die gewünschte biologische Funktion aufweisen.

35 „Funktionale Äquivalente“ sind außerdem Fusionsproteine, welche ein der oben genannten Polypeptidsequenzen oder davon abgeleitete funktionale Äquivalente und wenigstens eine weitere, davon funktionell verschiedene, heterologe Sequenz in funktioneller N- oder C-terminaler Verknüpfung (d.h. ohne gegenseitigen wesentlichen funktionellen Beeinträchtigung der Fusionsproteinteile) aufweisen. Nichtlimitierende Beispiele für derartige heterologe Sequenzen sind z.B. Sig-

nalpeptide, Enzyme, Immunoglobuline, Oberflächenantigene, Rezeptoren oder Rezeptorliganden.

- Erfindungsgemäß mit umfasste „funktionale Äquivalente“ sind Homologe zu den konkret offenen
5 barten Proteinen. Diese besitzen wenigstens 30%, oder etwa 40%, 50 %, vorzugsweise wenigstens etwa 60 %, 65%, 70%, oder 75% ins besondere wenigsten 85 %, wie z.B. 90%, 95% oder 99%, Homologie zu einer der konkret offenen Sequenzen, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 85(8), 1988, 2444-2448.
- 10 10 Homologe der erfindungsgemäßen Proteine oder Polypeptide können durch Mutagenese erzeugt werden, z.B. durch Punktmutation oder Verkürzung des Proteins. Der Begriff "Homolog", wie er hier verwendet wird, betrifft eine variante Form des Proteins, die als Agonist oder Antagonist der Protein-Aktivität wirkt.
- 15 15 Homologe des erfindungsgemäßen Proteine können durch Screening kombinatorischer Banken von Mutanten, wie z.B. Verkürzungsmutanten, identifiziert werden. Beispielsweise kann eine variegierende Bank von Protein-Varianten durch kombinatorische Mutagenese auf Nukleinsäure-ebene erzeugt werden, wie z.B. durch enzymatisches Ligieren eines Gemisches synthetischer Oligonukleotide. Es gibt eine Vielzahl von Verfahren, die zur Herstellung von Banken potentieller
20 20 Homologer aus einer degenerierten Oligonukleotidsequenz verwendet werden können. Die chemische Synthese einer degenerierten Gensequenz kann in einem DNA-Syntheseautomaten durchgeführt werden, und das synthetische Gen kann dann in einen geeigneten Expressionsvektor ligiert werden. Die Verwendung eines degenerierten Gensatzes ermöglicht die Bereitstellung sämtlicher Sequenzen in einem Gemisch, die den gewünschten Satz an potentiellen Protei-
nsequenzen codieren. Verfahren zur Synthese degenerierter Oligonukleotide sind dem Fachmann bekannt (Z.B. Narang, S.A. (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura et al. (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., (1984) Science 198:1056; Ike et al. (1983) Nucleic Acids Res. 11:477).
- 30 30 Zusätzlich können Banken von Fragmenten des Protein-Codons verwendet werden, um eine variegierende Population von Protein-Fragmenten zum Screening und zur anschließenden Selektion von Homologen eines erfindungsgemäßen Proteins zu erzeugen. Bei einer Ausführungsform kann eine Bank von kodierenden Sequenzfragmenten durch Behandeln eines doppelsträngigen PCR-Fragmentes einer kodierenden Sequenz mit einer Nuklease unter Bedingungen, unter denen ein Nicking nur etwa einmal pro Molekül erfolgt, Denaturieren der doppelsträngigen DNA, Renaturieren der DNA unter Bildung doppelsträngiger DNA, die Sense-/Antisense-Paare von verschiedenen genickten Produkten umfassen kann, Entfernen einzelsträngiger Abschnitte aus neu gebildeten Duplices durch Behandlung mit S1-Nuclease und Ligieren der resultierenden
35 35

Fragmentbank in einen Expressionsvektor erzeugt werden. Durch dieses Verfahren kann eine Expressionsbank hergeleitet werden, die N-terminale, C-terminale und interne Fragmente mit verschiedenen Größen des erfundungsgemäßen Proteins kodiert.

- 5 Im Stand der Technik sind mehrere Techniken zum Screening von Genprodukten kombinatorischer Banken, die durch Punktmutationen oder Verkürzung hergestellt worden sind, und zum Screening von cDNA-Banken auf Genprodukte mit einer ausgewählten Eigenschaft bekannt. Diese Techniken lassen sich an das schnelle Screening der Genbanken anpassen, die durch kombinatorische Mutagenese erfundungsgemäßer Homologer erzeugt worden sind. Die am häufigsten verwendeten Techniken zum Screening großer Genbanken, die einer Analyse mit hohem Durchsatz unterliegen, umfassen das Klonieren der Genbank in replizierbare Expressionsvektoren, Transformieren der geeigneten Zellen mit der resultierenden Vektorenbank und Exprimieren der kombinatorischen Gene unter Bedingungen, unter denen der Nachweis der gewünschten Aktivität die Isolation des Vektors, der das Gen codiert, dessen Produkt nachgewiesen wurde, erleichtert. Recursive-Ensemble-Mutagenese (REM), eine Technik, die die Häufigkeit funktioneller Mutanten in den Banken vergrößert, kann in Kombination mit den Screeningtests verwendet werden, um Homologe zu identifizieren (Arkin und Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave et al. (1993) Protein Engineering 6(3):327-331
- 10
- 15

20 c) Erfundungsgemäße Polynukleotide

Gegenstand der Erfindung sind ebenso Nukleinsäuresequenzen (einzel- und doppelsträngige DNA- und RNA-Sequenzen, wie z.B. cDNA und mRNA), kodierend für eines der obigen metF-Enzyme und deren funktionalen Äquivalenten, welche z.B. auch unter Verwendung künstlicher Nukleotidanaloga zugänglich sind.

Die Erfindung betrifft sowohl isolierte Nukleinsäuremoleküle, welche für erfundungsgemäße Polypeptide bzw. Proteine oder biologisch aktive Abschnitte davon kodieren, sowie Nukleinsäurefragmente, die z.B. zur Verwendung als Hybridisierungssonden oder Primer zur Identifizierung oder Amplifizierung von erfundungsgemäßer kodierenden Nukleinsäuren verwendet werden können.

30 Die erfundungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können zudem untranslatierte Sequenzen vom 3'- und/oder 5'-Ende des kodierenden Genbereichs enthalten

35

Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure zugegen sind und kann überdies im wesentlichen frei von anderem zellulären Material oder Kulturmedium sein, wenn es durch rekombinante Techni-

ken hergestellt wird, oder frei von chemischen Vorstufen oder anderen Chemikalien sein, wenn es chemisch synthetisiert wird.

Die Erfindung umfasst weiterhin die zu den konkret beschriebenen Nukleotidsequenzen kom-

5 plementären Nukleinsäuremoleküle oder einen Abschnitt davon.

Die erfindungsgemäß Nukleotidsequenzen ermöglichen die Erzeugung von Sonden und Primern, die zur Identifizierung und/oder Klonierung von homologer Sequenzen in anderen Zelltypen und Organismen verwendbar sind. Solche Sonden bzw. Primer umfassen gewöhnlich einen 10 Nukleotidsequenzbereich, der unter stringenten Bedingungen an mindestens etwa 12, vorzugsweise mindestens etwa 25, wie z.B. etwa 40, 50 oder 75 aufeinanderfolgende Nukleotide eines Sense-Stranges einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz oder eines entsprechenden Antisense-Stranges hybridisiert.

15 Weitere erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenzen sind abgeleitet von SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 oder 53 und unterscheiden sich davon durch Addition, Substitution, Insertion oder Deletion einzelner oder mehrerer Nukleotide, kodieren aber weiterhin für Polypeptide mit dem gewünschten Eigenschaftsprofil. Dies können Polynukleotide sein, die zu obigen Sequenzen in mindestens etwa 50%, 55%, 20 60%, 65%, 70%, 80% oder 90%, vorzugsweise in mindestens etwa 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% der Sequenzpositionen identisch sind.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch solche Nukleinsäuresequenzen, die sogenannte stumme Mutationen umfassen oder entsprechend der Codon-Nutzung eins speziellen Ursprungs- oder Wirtsorganismus, im Vergleich zu einer konkret genannten Sequenz verändert sind, ebenso wie natürlich vorkommende Varianten, wie z.B. Spleißvarianten oder Allelvarianten, davon. Gegenstand sind ebenso durch konservative Nukleotidsubstitutionen (d.h. die betreffende Aminosäure wird durch eine Aminosäure gleicher Ladung, Größe, Polarität und/oder Löslichkeit ersetzt) erhältliche Sequenzen.

30 Gegenstand der Erfindung sind auch die durch Sequenzpolymorphismen von den konkret offebarten Nukleinsäuren abgeleiteten Moleküle. Diese genetischen Polymorphismen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund der natürlichen Variation existieren. Diese natürlichen Variationen bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz eines Gens.

Weiterhin umfasst die Erfindung auch Nukleinsäuresequenzen, welchen mit oben genannten kodierenden Sequenzen hybridisieren oder dazu komplementär sind. Diese Polynukleotide las-

sen sich bei Durchmusterung von genomischen oder cDNA-Banken auffinden und gegebenenfalls daraus mit geeigneten Primern mittels PCR vermehren und anschließend beispielsweise mit geeigneten Sonden isolieren. Eine weitere Möglichkeit bietet die Transformation geeigneter Mikroorganismen mit erfindungsgemäßen Polynukleotiden oder Vektoren, die Vermehrung der

5 Mikroorganismen und damit der Polynukleotide und deren anschließende Isolierung. Darüber hinaus können erfindungsgemäße Polynukleotide auch auf chemischem Wege synthetisiert werden.

Unter der Eigenschaft, an Polynukleotide „hybridisieren“ zu können, versteht man die Fähigkeit
10 eines Poly- oder Oligonukleotids unter stringenten Bedingungen an eine nahezu komplementäre Sequenz zu binden, während unter diesen Bedingungen unspezifische Bindungen zwischen nicht-komplementären Partnern unterbleiben. Dazu sollten die Sequenzen zu 70-100%, vorzugsweise zu 90-100%, komplementär sein. Die Eigenschaft komplementärer Sequenzen, spezifisch aneinander binden zu können, macht man sich beispielsweise in der Northern- oder Sou-
15 therm-Blot-Technik oder bei der Primerbindung in PCR oder RT-PCR zunutze. Üblicherweise werden dazu Oligonukleotide ab einer Länge von 30 Basenpaaren eingesetzt. Unter stringenten Bedingungen versteht man beispielsweise in der Northern-Blot-Technik die Verwendung einer 50 – 70 °C, vorzugsweise 60 – 65 °C warmen Waschlösung, beispielsweise 0,1x SSC-Puffer mit 0,1% SDS (20x SSC: 3M NaCl, 0,3M Na-Citrat, pH 7,0) zur Elution unspezifisch hybridisierter
20 cDNA-Sonden oder Oligonukleotide. Dabei bleiben, wie oben erwähnt, nur in hohem Maße komplementäre Nukleinsäuren aneinander gebunden. Die Einstellung stringenter Bedingungen ist dem Fachmann bekannt und ist z.B. in Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. beschrieben.

25 c) Isolierung der kodierenden metF-Gene

Die für das Enzym Methylentetrahydrofolat Reduktase kodierenden metF-Gene aus den Organismen obiger Liste I sind in an sich bekannter Weise isolierbar.

30 Zur Isolierung der metF-Gene oder auch anderer Gene der Organismen aus obiger Liste I wird zunächst eine Genbank dieses Organismus in Escherichia coli (E. coli) angelegt. Das Anlegen von Genbanken ist in allgemein bekannten Lehrbüchern und Handbüchern ausführlich beschrieben. Als Beispiel seien das Lehrbuch von Winnacker: Gene und Klone, Eine Einführung in die Gentechnologie (Verlag Chemie, Weinheim, Deutschland, 1990), oder das Handbuch von
35 Sambrook et al.: Molecular Cloning, A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) genannt. Eine sehr bekannte Genbank ist die des E. coli K-12 Stammes W3110, die von Kohara et al. (Cell50, 495-508 (198)) in λ-Vektoren angelegt wurde.

Zur Herstellung einer Genbank von Organismen der Liste I in *E. coli* können Cosmide, wie der Cosmidvektor SuperCos I (Wahl et al., 1987, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 84: 2160-2164), aber auch Plasmide, wie pBR322 (BolíVal; Life Sciences, 25, 807-818 (1979)) oder pUC9 (Vieira et al., 1982, Gene, 19: 259-268), verwendet werden. Als Wirsche eignen sich besonders solche *E. coli* Stämme, die restriktions- und rekombinationsdefekt sind. Ein Beispiel hierfür ist der Stamm DH5 α mcr, der von Grant et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 87 (1990) 4645-4649) beschrieben wurde. Die mit Hilfe von Cosmiden klonierten langen DNA-Fragmente können anschließend wiederum in gängige, für die Sequenzierung geeignete Vektoren subkloniert und anschließend sequenziert werden, so wie es z. B. bei Sanger et al. (proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74: 5463-5467, 1977) beschrieben ist.

Die erhaltenen DNA-Sequenzen können dann mit bekannten Algorithmen bzw. Sequenzanalyse-Programmen, wie z. B. dem von Staden (Nucleic Acids Research 14, 217-232 (1986)), dem von Marck (Nucleic Acids Research 16, 1829-1836 (1988)) oder dem GCG-Programm von Butler (Methods of Biochemical Analysis 39, 74-97 (1998)), untersucht werden.

Die für die metF-Gene kodierenden DNA-Sequenzen von Organismen gemäß obiger Liste I wurden gefunden. Insbesondere wurden DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 20 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 gefunden. Weiterhin wurde aus diesen vorliegenden DNA-Sequenzen mit den oben beschriebenen Methoden die Aminosäuresequenzen der entsprechenden Proteine abgeleitet. Durch SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 sind die sich ergebenden Aminosäuresequenzen der metF-Genprodukte dargestellt.

25 Kodierende DNA-Sequenzen, die sich aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 durch die Degeneration des genetischen Kodes ergeben, sind ebenfalls Gegenstand der Erfindung. In gleicher Weise sind DNA-Sequenzen, die mit diesen Sequenzen oder davon abgeleiteten Sequenzen teilen hybridisieren, Gegenstand der Erfindung.

30 Anleitungen zur Identifizierung von DNA-Sequenzen mittels Hybridisierung findet der Fachmann unter anderem im Handbuch "The DIG System Users Guide für Filter Hybridization" der Firma Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Deutschland, 1993) und bei Liebl et al. (International Journal of Systematic Bacteriology (1991) 41: 255-260). Anleitungen zur Amplifikation von DNA-Sequenzen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) findet der Fachmann unter anderem im Handbuch von Gait: Oligonukleotide synthesis: A Practical Approach (IRL Press, Oxford,

UK, 1984) und bei Newton und Graham: PCR (Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland, 1994).

Weiterhin ist bekannt, dass Änderungen am N- und/oder C- Terminus eines Proteins dessen

- 5 Funktion nicht wesentlich beeinträchtigen oder sogar stabilisieren können. Angaben hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Ben-Bassat et al. (Journal of Bacteriology 169: 751-757 (1987)), bei O'Regan et al. (Gene 77: 237-251 (1989), bei Sahin-Toth et al. (Protein Sciences 3: 240-247 (1994)), bei Hochuli et al. (Biotechnology 6: 1321-1325 (1988)) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

10

Aminosäuresequenzen, die sich in entsprechender Weise aus den SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 ergeben, sind ebenfalls Bestandteil der Erfindung.

15 d) Erfindungsgemäß verwendete Wirtszellen

Weitere Gegenstände der Erfindung betreffen als Wirtszelle dienende Mikroorganismen, insbesondere coryneforme Bakterien, die einen Vektor, insbesondere Pendelvektor oder Plasmidvektor, der wenigstens ein metF-Gen erfundungsgemäßer Definition trägt, enthalten oder in denen 20 ein erfundungsgemäßes metF-Gen exprimiert bzw. verstärkt ist.

Diese Mikroorganismen können schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, aus Glucose, Saccharose, Lactose, Fructose, Maltose, Melasse, Stärke, Cellulose oder aus Glycerin und Ethanol herstellen. Vorzugsweise sind dies coryneforme Bakterien, insbesondere der 25 Gattung *Corynebacterium*. Aus der Gattung *Corynebacterium* ist insbesondere die Art *Corynebacterium glutamicum* zu nennen, die in der Fachwelt für ihre Fähigkeit bekannt ist, L-Aminosäuren zu produzieren.

- Als Beispiele für geeignete Stämme coryneformer Bakterien sind solche der Gattung *Corynebacterium*, insbesondere der Art *Corynebacterium glutamicum* (*C. glutamicum*), wie
30 *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032,
Corynebacterium acetoglutamicum ATCC 15806,
Corynebacterium acetoacidophilum ATCC 13870,
Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539,
35 *Corynebacterium melassecola* ATCC 17965

oder

der Gattung *Brevibacterium*, wie

Brevibacterium flavum ATCC 14067
Brevibacterium lactofermentum ATCC 13869 und
Brevibacterium divaricatum ATCC 14020 zu nennen;
oder davon abgeleitete Stämme, wie
5 Corynebacterium glutamicum KFCC10065
Corynebacterium glutamicum ATCC21608

welche ebenfalls die gewünschte Feinchemikalie oder deren Vorstufe(n) produzieren.
Mit der Abkürzung KFCC ist die Korean Federation of Culture Collection gemeint, mit der Abkür-
10 zung ATCC die American type strain culture collection, mit der Abkürzung FERM BP die Samm-
lung des National institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science
and Technology, Japan bezeichnet.

15 e) Durchführung der erfindungsgemäß Fermentation

Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass coryneforme Bakterien nach Überexpression eines metF-Gens aus Organismen der Liste I in vorteilhafter Weise schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, produzieren.
20 Zur Erzielung einer Überexpression kann der Fachmann unterschiedliche Maßnahmen einzeln oder in Kombination ergreifen. So kann die Kopienzahl der entsprechenden Gene erhöht werden, oder es kann die Promotor- und Regulationsregion oder die Ribosomenbindungsstelle, die sich stromaufwärts des Strukturgens befindet, mutiert werden. In gleicher Weise wirken Expressionskassetten, die stromaufwärts des Strukturgens eingebaut werden. Durch induzierbare Pro-
25 motoren ist es zusätzlich möglich, die Expression im Verlaufe der fermentativen L-Methionin-Produktion zu steigern. Durch Maßnahmen zur Verlängerung der Lebensdauer der mRNA wird ebenfalls die Expression verbessert. Weiterhin wird durch Verhinderung des Abbaus des Enzymproteins ebenfalls die Enzymaktivität verstärkt. Die Gene oder Genkonstrukte können entweder in Plasmiden mit unterschiedlicher Kopienzahl vorliegen oder im Chromosom integriert und amplifiziert sein. Alternativ kann weiterhin eine Überexpression der betreffenden Gene durch Veränderung der Medienzusammensetzung und Kulturführung erreicht werden.

Anleitungen hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Martin et al. (Biotechnology 5, 137-
35 146 (1987)), bei Guerrero et al. (Gene 138, 35-41 (1994)), Tsuchiya und Morinaga (Bio/Technology 6, 428-430 (1988)), bei Eikmanns et al. (Gene 102, 93-98 (1991)), in der Euro-
päischen Patentschrift 0472869, im US Patent 4,601,893, bei Schwarzer und Pühler (Biotechno-
logy 9, 84-87 (1991)), bei Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132

(1994), bei LaBarre et al. (Journal of Bacteriology 175, 1001-1007 (1993)), in der Patentanmeldung WO 96/15246, bei Malumbres et al. (Gene 134, 15-24 (1993)), in der japanischen Offenlegungsschrift JP-A-10-229891, bei Jensen und Hammer (Biotechnology and Bioengineering 58, 191-195 (1998)), bei Makrides (Microbiological Reviews 60 : 512-538 (1996) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

Gegenstand der Erfindung sind deshalb auch Expressionskonstrukte, enthaltend unter der genetischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Polypeptid kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser Expressionskonstrukte. Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßigen Konstrukte 5'-stromaufwärts von der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar jeweils operativ verknüpft mit der kodierenden Sequenz. Unter einer „operativen Verknüpfung“ versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann. Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Aktivierungssequenzen sowie Enhancer und dergleichen. Weitere regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen. Geeignete regulatorische Sequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).

Zusätzlich zu den artifiziellem Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Strukturgen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturgen insertiert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Beispiele für brauchbare Promotoren sind: die Promotoren, ddh, amy, lysC, dapA, lysA aus *Corynebacterium glutamicum*, aber auch gram-positiven Promotoren SPO2 wie sie in *Bacillus Subtilis and Its Closest Relatives*, Sonenshein, Abraham L., Hoch, James A., Losick, Richard; ASM Press, District of Columbia, Washington und Patek M. Eikmanns BJ. Patek J. Sahm H. Microbiology. 142 1297-309, 1996 beschrieben sind, oder aber auch cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, λ-PR- oder im λ-PL-Promotor, die vorteil-

hafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden. Bevorzugt ist auch die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer Promotoren, wie der P_P-Promotor. Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.

5

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder dass es sofort exprimiert

10 und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke 15 Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promoters, 20 einer geeigneten Shine-Dalgarnow-Sequenz mit einer metF-Nukleotidsequenz sowie einem geeigneten Terminationssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, 1993, John Wiley & Sons, Incorporated, New York New York, PCR Methods, Gelfand, David H., Innis, Michael A., Sninsky, John J. 1999, Academic Press, Incorporated, California, San Diego, .., PCR Cloning Protocols, Methods in Molecular Biology Ser., Vol. 192, 2nd ed., Humana Press, New Jersey, Totowa. T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. 25 Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

30 Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor insertiert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch 35 alle anderen dem Fachmann bekannten Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren

können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

Zur Verstärkung wurden erfindungsgemäße metF-Gene beispielhaft mit Hilfe von episomalen Plasmiden überexprimiert. Als Plasmide eignen sich solche, die in coryneformen Bakterien repliziert werden. Zahlreiche bekannte Plasmidvektoren, wie z. B. pZ1 (Menkel et al., Applied and Environmental Microbiology (1989) 64: 549-554), pEKEx1 (Eikmanns et al., Gene 102: 93-98 (1991)) oder pHs2-1 (Sonnen et al., Gene 107: 69-74 (1991)) beruhen auf den kryptischen Plasmiden pHM1519, pBL1 oder pGA1. Andere Plasmidvektoren, wie z. B. pCLiK5MCS, oder solche, die auf pCG4 (US-A 4,489,160) oder pNG2 (Serwold-Davis et al., FEMS Microbiology Letters 66, 119-124 (1990)) oder pAG1 (US-A 5,158,891) beruhen, können in gleicher Weise verwendet werden.

Weiterhin eignen sich auch solche Plasmidvektoren mit Hilfe derer man das Verfahren der Genamplifikation durch Integration in das Chromosom anwenden kann, so wie es beispielsweise von Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132 (1994)) zur Duplikation bzw. Amplifikation des hom-thrB-Operons beschrieben wurde. Bei dieser Methode wird das vollständige Gen in einen Plasmidvektor kloniert, der in einem Wirt (typischerweise *E. coli*), nicht aber in *C. glutamicum* replizieren kann. Als Vektoren kommen beispielsweise pSUP301 (Simon et al., Bio/ Technology 1,784-791 (1983)), pK18mob oder pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73 (1994)), Bernard et al., Journal of Molecular Biology, 234: 534-541 (1993)), pEM1 (Schrumpf et al. 1991, Journal of Bacteriology 173: 4510-4516) oder pBGS8 (Spratt et al., 1986, Gene 41: 337-342) in Frage. Der Plasmidvektor, der das zu amplifizierende Gen enthält, wird anschließend durch Transformation in den gewünschten Stamm von *C. glutamicum* überführt. Methoden zur Transformation sind beispielsweise bei Thierbach et al. (Applied Microbiology and Biotechnology 29, 356-362 (1988)), Dunican und Shivnan (Biotechnology 7, 1067-1070 (1989)) und Tauch et al. (FEMS Microbiological Letters 123,343-347 (1994)) beschrieben.

Enzyme können durch Mutationen in den korrespondierenden Genen derart in ihrer Aktivität beeinflußt werden, dass es zu einer teilweisen oder vollständigen Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion kommt. Beispiele für solche Mutationen sind dem Fachmann bekannt (Motoyama H. Yano H. Terasaki Y. Anazawa H. Applied & Environmental Microbiology. 67:3064-70, 2001, Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94.)

35 Zusätzlich kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben einer Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen metF-Gen eines oder mehrere Enzyme des jeweiligen Biosyntheseweges, des Cystein-Stoffwechselwegs, der Aspartatsemialdehyd-Synthese, der Glykolyse, der Anaplerotik, des Pen-

tose-Phosphat-Stoffwechsels, des Zitronensäure-Zyklus oder des Aminosäure-Exports zu verstärken.

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin,

5 eines oder mehrere der folgenden Gene verstärkt sein:

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen lysC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),

- das für eine Aspartat-Semialdehyd Dehydrogenase kodierende Gen asd (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 282),

- das für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen gap (Eikmanns 10 (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierende Gen pgk (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Triosephosphat Isomerase kodierende Gen tpi (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierende Gen metA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 725),

- das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen metB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),

- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen metC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen glyA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

- das für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierende Gen metY (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

- das für die Methionin Synthase kodierende Gen meth (EP 1 108 790 A2),

- das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen serC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen serB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen cysE (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)

- das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ

35 NO. 1306)

So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, in coryneformen Bakterien, vorteilhaft sein, gleichzeitig wenigstens eines der nachfolgenden Gene

zu mutieren, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch einen Stoffwechselmetaboliten in ihrer Aktivität beeinflusst werden:

- 5 - das für eine Aspartatkinase kodierende Gen lysC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),
 - das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),
 - das für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierende Gen metA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 725),
- 10 - das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen metB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),
 - das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen metC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),
 - das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen glyA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),
 - das für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierende Gen metY (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),
 - das für die Methionin Synthase kodierende Gen metH (EP 1 108 790 A2),
 - das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen serC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)
- 20 - eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen serB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)
 - das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen cysE (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)
- 25 - das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsge-30 mäßen metF-Gene eines oder mehrere der folgenden Gene abzuschwächen, insbesondere deren Expression zu verringern, oder auszuschalten:

- 35 - das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
 - das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)
 - das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
 - das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)

- das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)
- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)
- 5 - das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodiernde Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)
- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodiernde Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)
- 10 - das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodiernde Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsgemäßen metF-Gene in coryneformen Bakterien gleichzeitig wenigstens eines der folgenden Gene so zu mutieren, dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird:

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- 20 - das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)
- das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)
- 25 - das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)
- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)
- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- 30 - das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodiernde Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)
- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)
- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodiernde Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben der Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen

metF-Gens unerwünschte Nebenreaktionen auszuschalten (Nakayama: "Breeding of Amino Acid Producing Microorganisms", in: Overproduction of Microbial Products, Krumphanzl, Sikyta, Vaneck (eds.), Academic Press, London, UK, 1982).

- 5 Die erfindungsgemäß hergestellten Mikroorganismen können kontinuierlich oder diskontinuierlich im batch- Verfahren (Satzkultivierung) oder im fed batch (Zulaufverfahren) oder repeated fed batch Verfahren (repetitives Zulaufverfahren) zur Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, kultiviert werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.
- 10
- 15
- 20

Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen gewöhnlich eine oder mehreren Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

- 25
- 30
- 35

Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z. B. Sojaöl. Sonnenblumenöl. Erdnußöl und Kokosfett, Fettsäuren wie z. B. Palmitinsäure, Stearin-säure oder Linolsäure, Alkohole wie z. B. Glycerin, Methanol oder Ethanol und organische Säuren wie z. B. Essigsäure oder Milchsäure.

- 40
- 45
- 50

Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak-Gas oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlo-

rid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen

Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von 5 Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydro- 10 genphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten. Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

15 Die erfindungsgemäß eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthenonat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Me- 20 lassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Infor- mation über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physi- 25 ology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der An- 30 zucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experiments konstant gehalten oder verändert werden. Der 35 pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht lässt sich während der Anzucht durch Zugabe von basische Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder saure Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung

können Antischaummitte, wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z. B. Umgebungsluft, in die Kultur einge-
5 tragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere L-Methionin enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.
10

Vorteilhaft ist außerdem auch, wenn die Fermentation zumindest am Ende, insbesondere jedoch über mindestens 30% der Fermentationsdauer zuckerlimitiert gefahren wird. Das heißt, dass während dieser Zeit die Konzentration an verwertbarem Zucker im Fermentationsmedium auf ≥ 0 15 bis 3 g/l gehalten, beziehungsweise abgesenkt wird.

Die Fermentationsbrühe wird anschließend weiterverarbeitet. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder
20 vollständig in ihr belassen werden.

Anschließend kann die Fermentationsbrühe mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkon-
25 zentierte Fermentationsbrühe kann anschließend durch Gefriertrocknung, Sprühtrocknung, Sprühgranulation oder durch anderweitige Verfahren aufgearbeitet werden.

Es ist aber auch möglich die schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesonder L-Methionin, weiter aufzureinigen. Hierzu wird die produkthaltige Brühe nach dem Abtrennen der Biomasse einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Produkt oder die Verunreinigungen ganz oder teilweise auf dem Chromatographieharz zurückgehalten werden. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung bewandert. Das gereinigte
30 Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbe- wahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindung(en) kann durch Techniken des Standes der

Technik bestimmt werden. Diese umfassen Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, NIRS, Enzymtest oder mikrobiologische Tests. Diese Analyseverfahren sind zusammengefaßt in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotehnologiya 11 27-32; 5 und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

10 Die Erfindung wird nun anhand der folgenden nicht-limitierenden Beispiele und unter Bezugnahme auf beiliegende Figuren näher beschrieben. Dabei zeigt

Figur 1 die Plasmidkarte zu Plasmid pClysC;
15 Figur 2 die Plasmidkarte zu Plasmid pCISlysCthr311ile;
Figur 3 die Plasmidkarte zu Plasmid pC_metF_Cd.
Restriktionsschnittstellen mit der entsprechenden Positionsangabe in Klammern sind in den Plasmidkarten angegeben. Wesentliche Sequenzabschnitte sind fettgedruckt beschrieben.
KanR steht für Kanamycin-Resistenzgen; ask steht für Aspartatkinasegen.

20
Beispiel 1: Konstruktion von pCLiK5MCS

Zunächst wurden Ampicillinresistenz und Replikationsursprung des Vektors pBR322 mit den 25 Oligonukleotiden p1.3 (SEQ ID NO:55) und p2.3 (SEQ ID NO:56) mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert.

p1.3 (SEQ ID NO:55)
5'-CCCGGGATCCGCTAGCGGCCGCCGGCCGGTGTGAAATACCGCACAG-3'
30 p2.3 (SEQ ID NO:56)
5'-TCTAGACTCGAGCGGCCGCCGGCTTAAATTGAAGACGAAAGGGCCTCG-3'

Neben den zu pBR322 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid p1.3 (SEQ ID 35 NO:55) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SmaI, BamHI, NheI und Ascl und das Oligonukleotid p2.3 (SEQ ID NO:56) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, Xhol, NotI und DraI. Die PCR Reaktion wurde nach Stan-

dardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,1 kb wurde mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Die stumpfen Enden des DNA-Fragmentes wurden mit dem Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers miteinander ligiert und der Ligationsatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK1.

Ausgehend vom Plasmid pWLT1 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden neo1 (SEQ ID NO:57) und neo2 (SEQ ID NO:58) eine Kanamycin-Resistenzcassette amplifiziert.

neo1 (SEQ ID NO:57):

5'-GAGATCTAGACCCGGGGATCCGCTAGCGGGCTGCTAAAGGAAGCGGA-3'

neo2 (SEQ ID NO:58):

5'-GAGAGGCCGCCGCTAGCGTGGCGAAGAACTCCAGCA-3'

Neben den zu pWLT1 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid neo1 in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, SmaI, BamHI, NheI und das Oligonukleotid neo2 (SEQ ID NO:58) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen Ascl und NheI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,3 kb wurde mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und Ascl (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK1 wurde ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und Ascl geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers

dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,1kb) mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) und Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

10

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK2.

15

Der Vektor pCLiK2 wurde mit der Restriktionsendonuklease Drai (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ca. 2,3 kb großes Vektorfragment mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers religiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben (1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

25

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK3.

30

Ausgehend vom Plasmid pWLQ2 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden cg1 ((SEQ ID NO:59) und cg2 (SEQ ID NO:60) der Replikationsursprung pHM1519 amplifiziert.

cg1 (SEQ ID NO:59):

35 5'-GAGAGGGCGGCCGCGCAAAGTCCCGCTTCGTGAA-3'

cg2 (SEQ ID NO:60):

5'-GAGAGGGCGGCCGCTCAAGTCGGTCAAGGCCACGC-3'

Neben den zu pWLQ2 komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide cg1 (SEQ ID NO:59) und cg2 (SEQ ID NO:60) Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and

- 5 Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,7 kb wurde mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem
10 GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK3 wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,3kb) mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit
15 (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA)
20 transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so
25 erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5.

Für die Erweiterung von pCLiK5 um eine „multiple cloning site“ (MCS) wurden die beide synthetischen, weitestgehend komplementären Oligonukleotide HS445 ((SEQ ID NO:61) und HS446 (SEQ ID NO:62), die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen Swal, Xhol, AatI, Apal,
30 Asp718, Mlul, Ndel, Spel, EcoRV, Sall, Clal, BamHI, XbaI und Smal enthalten, durch gemeinsames erhitzen auf 95°C und langsames abkühlen zu einem doppelsträngigen DNA-Fragment vereinigt.

HS445 (SEQ ID NO:61):

35 5'-TCGAATTAAATCTCGAGAGGCCCTGACGTCGGGCCGGTACCAACGCGTCATATGACTAG
TTCGGACCTAGGGATATCGTCGACATCGATGCTCTCTCGCTTAATTAACAATTGGGATCC
TCTAGACCCGGGATTAAAT-3'

HS446 (SEQ ID NO:62):

5'-GATCATTAAATCCC GG GTCTAGAGGA CCCAATTGTTAACG CAGAAGAGCATCGA
TGTCGACGATATCCCTAGGTCCGAACTAGTCATATGAC GCGTGGTACC GGGCCCGACGTC
AGGCCTCTCGAGATTAAAT-3'

5

Der Vektor pCLiK5 wurde mit den Restriktionsendonuklease Xhol und BamHI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 5,0 kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem synthetischen Doppelsträngigen DNA-Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

10

15

20

25

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS.

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

30

Ausgehend vom Plasmid pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73(1994)) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden BK1732 und BK1733 das Bacillus subtilis sacB Gen (kodierend für Levan Sucrase) amplifiziert.

35

BK1732 (SEQ ID NO:63):

5'-GAGAGCGGCCGCGATCCTTTAACCCATCAC-3'

BK1733 (SEQ ID NO:64):

5'-AGGAGCGGCCGCCATCGGCATTTCTTTGCG-3'

Neben den zu pEK19mobsac komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide BK1732 und BK1733 Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion 5 wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,9 kb wurde mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI 10 (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt.

Der Vektor pCLiK5MCS (hergestellt gemäß Beispiel 1) wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ungefähr 2,4 kb großes Vektorfragment mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, 20 Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

25 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdau überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS integrativ sacB.

30 Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS integrativ sacB ist als SEQ ID NO: 66 aufgeführt.
35 Weitere Vektoren die zur erfindungsgemäßen Expression oder Überproduktion von metF-Genen geeignet sind, können in analoger Weise herstellt werden.

Beispiel 3: Isolierung des lysC Gens aus dem C. glutamicum Stamm LU1479

Im ersten Schritt der Stammkonstruktion soll ein allelischer Austausch des lysC Wildtypgens, kodierend für das Enzym Aspartatkinase, in C. glutamicum ATCC13032, im folgenden LU1479 genannt, durchgeführt werden. Dabei soll im LysC Gen ein Nukleotidaustausch durchgeführt 5 werden, so dass im resultierenden Protein die Aminosäure Thr an der Position 311 durch die Aminosäure Ile ausgetauscht ist.

Ausgehend von der chromosomalen DNA aus LU1479 als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotidprimern SEQ ID NO:67 und SEQ ID NO:68 lysC mit Hilfe des Pfu-
10 Turbo PCR Systems (Stratagene USA) nach Angaben des Herstellers amplifiziert. Chromosomal DNA aus C. glutamicum ATCC 13032 wurde nach Tauch et al. (1995) Plasmid 33:168-179 oder Eikmanns et al. (1994) Microbiology 140:1817-1828 präpariert. Das amplifizierte Fragment wird an seinem 5'-Ende von einem Sall Restriktionsschnitt und an seinem 3'-Ende von einem MluI Restriktionsschnitt flankiert. Vor der Klonierung wurde das amplifizierte Fragment
15 durch diese beiden Restriktionsenzyme verdaut und mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) aufgereinigt.

SEQ ID NO:67

5'-GAGAGAGAGACCGTCCCAGTGGCTGAGACGCATC -3'

20

SEQ ID NO:68

5'-CTCTCTCTGTCGACGAATTCAATCTTACGGCCTG-3'

Das erhaltenen Polynukleotid wurde über die Sall und MluI Restriktionsschnitte in pCLIK5 MCS
25 integrativ SacB (im folgenden pCIS genannt; SEQ ID NO: 66 aus Beispiel 2) kloniert und in E.coli XL-1 blue transformiert. Eine Selektion auf Plasmid-tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml)-haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht. Das Plasmid wurden isoliert und durch Sequenzierung die erwartete Nukleotidsequenz bestätigt. Die Präparation der Plasmid-DNA wurde nach Methoden und mit Materialien der Firma
30 Qiagen durchgeführt. Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet. Das erhaltene Plasmid pCIS lysC ist als SEQ ID NO:69 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 1 dargestellt.

35

Die Sequenz SEQ ID NO:69 umfasst die folgenden wesentlichen Teilbereiche:

LOCUS pCISlysC 5860 bp DNA circular

FEATURES Location/Qualifiers

CDS¹⁾ 155..1420
 /vntifkey="4"
 /label=lysC
 5 CDS complement²⁾(3935..5356)
 /vntifkey="4"
 /label=sacB\bacillus\subtilis
 promoter complement(5357..5819)
 /vntifkey="30"
 /label=Promotor\sacB
 10 C_region complement(3913..3934)
 /vntifkey="2"
 /label=sacB\downstreambereich
 CDS 1974..2765
 /vntifkey="4"
 15 CDS /label=Kan\R
 CDS complement(3032..3892)
 /vntifkey="4"
 /label=Orl\EC\pMB

20 ¹⁾ kodierende Sequenz

²⁾ auf Komplementärstrang

Beispiel 4: Mutagenese des lysC Gens aus C. glutamicum

Die gerichtete Mutagenese des lysC Gens aus C. glutamicum (Beispiel 3) wurde mit dem
 25 QuickChange Kit (Fa. Stratagene/USA) nach Angaben des Herstellers durchgeführt. Die Mutagenese wurde im Plasmid pCIS lysC, SEQ ID NO:69 durchgeführt. Für den Austausch von thr311 nach 311ile mit Hilfe der Quickchange Methode (Stratagene) wurden folgende Oligonukleotidprimer synthetisiert

30 SEQ ID NO:70

5'-CGGCACCAACCGACATCATCTTCACCTGCCCTCGTTCCG -3'

SEQ ID NO:71

5'-CGGAACGAGGGCAGGTGAAGATGATGTCGGTGGTGCCG -3'

35

Der Einsatz dieser Oligonukleotidprimer in der Quickchange Reaktion führt in dem lysC Gen zu einem Austausch des Nukleotids in Position 932 (von C nach T) (vgl. SEQ ID NO:72) und im korrespondierenden Enzym zu einem Aminosäuresubstitution in Position 311 (Thr→Ile) (vgl. SEQ ID NO:73). Der resultierende Aminosäureaustausch Thr311Ile im lysC Gen wurde nach

Transformation in E.coli XL1-blue und Plasmidpräparation durch Sequenzierung bestätigt. Das Plasmid erhielt die Bezeichnung pCIS lysC thr311ile und ist als SEQ ID NO:74 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 2 dargestellt.

5

Die Sequenz SEQ ID NO:74 umfasst die folgenden wesentlichen Teilbereiche:

LOCUS	pCIS\lysC\thr311ile	5860 bp	DNA	circular
FEATURES	Location/Qualifiers			
10 CDS ¹⁾	155..1420			
	/vntifkey="4"			
	/label=lysC			
15 CDS	complement ²⁾ (3935..5356)			
	/vntifkey="4"			
	/label=sacB\bacillus\subtilis			
20 promoter	complement(5357..5819)			
	/vntifkey="30"			
	/label=Promotor\sacB			
C_region	complement(3913..3934)			
25 CDS	1974..2765			
	/vntifkey="4"			
	/label=Kan\R			
30 CDS	complement(3032..3892)			
	/vntifkey="4"			
	/label=Ori\EC\pMB)			

¹⁾ kodierende Sequenz

²⁾ auf Komplementärstrang

Das Plasmid pCIS lysC thr311ile wurde in C. glutamicum LU1479 mittels Elektroporation wie bei Liebl, et al. (1989) FEMS Microbiology Letters 53:299-303 beschrieben, transformiert. Modifikationen des Protokolls sind in DE-A-10046870 beschrieben. Die chromosomale Anordnung des lysC-Lokus einzelner Transformanten wurde mit Standardmethoden durch Southernblot und Hybridisierung, wie in Sambrook et al. (1989), Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben, überprüft. Dadurch wurde sichergestellt, dass es sich bei den Transformanten um solche handelt, die das transformierte Plasmid durch homologe Rekombination am lysC-Lokus integriert haben. Nach Wachstum solcher Kolonien über Nacht in Medien, die kein Antibiotikum enthielten, wurden die Zellen auf ein Saccharose-CM-Agarmedium (10%

Saccharose) ausplattiert und bei 30°C für 24 Stunden inkubiert.

Da das im Vektor pCIS lysC thr311ile enthaltende sacB Gen Saccharose in ein toxisches Produkt umwandelt, können nur solche Kolonien anwachsen, die das sacB Gen durch einen zweiten homologen Rekombinationsschritt zwischen dem Wildtyp lysC Gen und dem mutierten Gen

- 5 lysC thr311ile deletiert haben. Während der homologen Rekombination kann entweder das Wildtyp Gen oder das mutierte Gen zusammen mit dem sacB Gen deletiert werden. Wenn das sacB Gen zusammen mit dem Wildtyp Gen entfernt wird, resultiert eine mutierte Transformante.

Anwachsende Kolonien wurden gepickt, und auf eine Kanamycin-sensitiven Phänotyp hin untersucht.

- 10 Klone mit deletiertem SacB Gen müssen gleichzeitig Kanamycin-sensitives Wachstumsverhalten zeigen. Solche Kan-sensitiven Klonen wurde im einem Schüttelkolben auf ihre Lysin-Produktivität hin untersucht (siehe Beispiel 6). Zum Vergleich wurde der nichtbehandelte Stamm LU1479 angezogen. Klonen mit einer gegenüber der Kontrolle erhöhten Lysin-Produktion wurden selektiert, chromosomal DNA wurde gewonnen und der entsprechende Bereich des lysC Gens
- 15 wurde durch eine PCR-Reaktion amplifiziert und sequenziert. Ein solcher Klon mit der Eigenschaft erhöhter Lysin-Synthese und nachgewiesener Mutation in lysC an der Stelle 932 wurde mit LU1479 lysC 311ile bezeichnet).

Beispiel 5: Herstellung Ethionin-resistenter *C. glutamicum* Stämme

- 20 Im zweiten Schritt der Stammkonstruktion wurde der erhaltene Stamm LU1479 lysC 311ile (Beispiel 4) behandelt, um eine Ethionin-Resistenz (Kase, H. Nakayama K. Agr. Biol. Chem. 39 153-106 1975 L-methionine production by methionine analog-resistant mutants of Corynebacterium glutamicum) zu induzieren: Eine Übernachtkultur in BHI-Medium (Difco) wurde in Citratpuffer (50mM pH 5,5) gewaschen und bei 30°C für 20 min mit N-Methyl-nitrosoguanidin (10mg/ml in 50mM Citrat pH 5,5) behandelt. Nach der Behandlung mit dem chemischen Mutagen N-Methyl-nitrosoguanidin wurden die Zellen gewaschen (Citratpuffer 50mM pH 5,5) und auf ein Medium plattiert, das aus folgenden Komponenten, berechnet auf 500ml, zusammengesetzt war: 10g (NH₄)₂SO₄, 0,5g KH₂PO₄, 0,5g K₂HPO₄, 0,125g MgSO₄·7H₂O, 21g MOPS, 50mg CaCl₂, 15mg Proteokatechuat, 0,5mg Biotin, 1mg Thiamin, 5g/l D,L-Ethionin (Sigma Chemicals Deutschland), pH 7,0. Außerdem enthielt das Medium 0,5ml einer Spurensalzlösung aus: 10g/l FeSO₄·7H₂O, 1g/l MnSO₄·H₂O, 0,1g/l ZnSO₄·7H₂O, 0,02g/l CuSO₄, 0,002g/l NiCl₂·6H₂O, Alle Salze wurden in 0,1M HCl gelöst. Das fertig zusammengestellte Medium wurde sterilfiltriert und nach Zugabe von 40ml steriler 50% Glucoselösung, mit flüssigem steriles Agar in einer Endkonzentration von 35 1,5% Agar versetzt und in Kulturschalen ausgegossen.

Auf Platten mit dem beschriebenen Medium wurden mutagenisierte Zellen aufgebracht und 3-7

Tage bei 30°C inkubiert. Erhaltene Klone wurden isoliert, mindestens einmal auf dem Selektionsmedium vereinzelt und dann auf ihre Methionin-Produktivität in einem Schüttelkolben in Medium II untersucht (siehe Beispiel 6)

5 **Beispiel 6:** Herstellung von Methionin mit dem Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16.

Die in Beispiel 5 hergestellten Stämme wurden auf einer Agar-Platte mit CM-Medium für 2 Tag bei 30°C angezogen.

CM-Agar:

10 10,0 g/l D-Glucose, 2,5 g/l NaCl, 2,0 g/l Harnstoff, 10,0 g/l Bacto Pepton (Difco), 5,0 g/l Yeast Extract (Difco), 5,0 g/l Beef Extract (Difco), 22,0 g/l Agar (Difco), autoklaviert (20 min., 121°C)

Anschließend wurden die Zellen von der Platte abgekratzt und in Saline resuspendiert. Für die
15 Hauptkultur wurden 10 ml Medium II und 0,5 g autoklaviertes CaCO₃ (Riedel de Haen) in einem 100 ml Erlenmeyerkolben mit der Zellsuspension bis zu einer OD600nm von 1,5 beimpft und für 72h auf einem Orbitalschüttler mit 200 Upm bei 30°C inkubiert.

Medium II:

20 40g/l Saccharose
60g/l Melasse (auf 100% Zuckergehalt berechnet)
10g/l (NH₄)₂SO₄
0.4g/l MgSO₄*7H₂O
0.6g/l KH₂PO₄
25 0.3mg/l Thiamin*HCl
1mg/l Biotin (aus einer 1 mg/ml steril filtrierten Stammlösung die mit NH₄OH auf pH 8,0 eingestellt wurde)
2mg/l FeSO₄
2mg/l MnSO₄
30 mit NH₄OH auf pH 7,8 eingestellt, autoklaviert (121°C, 20 min). Zusätzlich wird Vitamin B12 (Hydroxycobalamin Sigma Chemicals) aus einer Stammlösung (200 µg/ml, steril filtriert) bis zu einer Endkonzentration von 100 µg/l zugegeben

Gebildetes Methionin, sowie andere Aminosäuren in der Kulturbrühe wurde mit Hilfe der Aminosäuresäure-Bestimmungsmethode von Agilent auf einer Agilent 1100 Series LC System HPLC. Eine Derivatisierung vor der Säulentrennung mit Ortho-Phthalaldehyd erlaubte die Quantifizierung der gebildeten Aminosäuren. Die Auftrennung des Aminosäuregemisch fand auf einer

Hypersil AA-Säule (Agilent) statt.

Solche Klone wurden isoliert, deren Methionin-Produktivität mindestens doppelt so hoch war, wie die des Ausgangsstamm LU1479 lysC 311ile. Ein solcher Klon wurde für die weiteren Versuche
5 eingesetzt und bekam die Bezeichnung LU1479 lysC 311ile ET-16.

Beispiel 7: Klonierung von metF aus *Corynebacterium diphtheriae* und Klonierung in das Plasmid pC metF_Cd

10 Chromosomale DNA von *Corynebacterium diphtheriae* wurde von der American Type Strain Culture Collection (ATCC, Atlanta-USA) mit der Bestellnummer 700971D aus dem Stamm ATCC 700971 bezogen.

Mit den Oligonukleotidprimer SEQ ID NO:75 und SEQ ID NO:76, der chromosomal DNA aus
15 *C. diphtheriae* als Template und Pfu Turbo Polymerase (Fa. Stratagene) wurde mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nach Standardmethoden wie Innis et al. (1990) PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press ein DNA Fragment von ca. 1,2 kb amplifiziert, welches das metF Gen inklusive eines nichtkodierenden 5'-Bereiches (Promotorregion) enthält. Das amplifizierte Fragment ist an seinem 5'-Ende von einer Xhol-Restriktionsschnittstelle
20 und am 3'-Ende von einer XbaI- Restriktionsschnittstelle flankiert, welche über die Oligonukleotidprimer eingeführt wurden.

SEQ ID NO:75

5'-GAGACTCGAGGTAGACTTTAAACCCATATTAG-3'

25 und

SEQ ID NO:76

5'-GAAGTCTAGATTAGCGAATAGCGTCGTGG-3'

Das erhaltene DNA Fragment wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit
30 (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Im Anschluß daran wurde es mit den Restriktionsenzymen Xhol und XbaI (Roche Diagnostics, Mannheim) gespalten und geelektrophoretisch aufgetrennt. Anschließend wurde das ca. 1,2 kb große DNA Fragment mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) aus der Agarose aufgereinigt.

35

Der Vektor pClik5MCS SEQ ID NO: 65, im folgenden pC genannt, wurde mit den Restriktionszymen Xhol und XbaI (Roche Diagnostics, Mannheim) geschnitten und ein ca. 5 kb großes Fragment nach elektrophoretischer Auftrennung mit GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification

Kit isoliert.

Das Vektorfragment wurde zusammen mit dem PCR-Fragment mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers ligiert und der Ligation-

5sansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20 μ g/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

- 10 Die Präparation der Plasmid DNA wurde nach Methoden und mit Materialien der Fa. Qiagen durchgeführt. Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.
- 15 Das entstandene Plasmid pC metF_Cd (*Corynebacterium diphtheriae*) ist als SEQ ID NO:77 aufgeführt. Die entsprechende Plasmidkarte ist in Figur 3 dargestellt.

pC_metF_Cd 6142 bp DNA circular

	FEATURE	Location/Qualifiers
20	CDS	136..1158 =metF_Coryne\diphtheriae
	CDS	1508..2299 =KanR
25	CDS	4580..5701 =Rep\Protein
	CDS	3572..4246 =ORF\1
	CDS	complement(2566..3426)
30		=Orf\EC\(\pMB)

Beispiel 8: Transformation des Stammes LU1479 lysC 311ile ET-16 mit dem Plasmid pC metF_Cd

35 Der Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16 wurde mit dem Plasmid pC metF_Cd nach der beschriebenen Methode (Liebl, et al. (1989) FEMS Microbiology Letters 53:299-303) transformiert. Die Transformationsmischung wurde auf CM-Platten plattierte, die zusätzlich 20mg/l Kanamycin enthielten, um eine Selektion auf Plasmid-haltige Zellen zu erreichen. Erhaltene Kan-
40 resistente Klone wurden gepickt und vereinzelt. Die Methionin-Produktivität der Klone wurde in

einem Schüttelkolbenversuch (s. Beispiel 6) untersucht. Der Stamm LU1479 lysC 311ile ET-16 pC metF_Cd produzierte im Vergleich zu LU1479 lysC 311ile ET-16 signifikant mehr Methionin.

Patentansprüche

1. Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:
 - a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Methylentetrahydrofolat Reduktase (metF)-Aktivität kodiert;
 - b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und
 - c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie.

- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die schwefelhaltige Feinchemikalie L-Methionin umfasst.

3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei sich die heterologe metF-kodierende Nukleotidsequenz zur metF-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie vom weniger als 100% aufweist.

- 20 4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die metF-kodierende Sequenz aus einem der folgenden Organismen abgeleitet ist:

Organismus	Stammsammlung
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ATCC 14779
<i>Streptomyces lividans</i>	ATCC 19844
<i>Streptomyces coelicolor</i>	ATCC 10147
<i>Aquifex aeolicus</i>	DSM 6858
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416
<i>Nitrosomonas europaea</i>	ATCC 19718
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 17933
<i>Xylella fastidiosa</i>	ATCC 35881
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	ATCC 24969
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 10751
<i>Erwinia carotovora</i>	ATCC 15713
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700721
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 12839
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 15277
<i>Escherichia coli</i> K12	ATCC55151

<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 39315
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 51907
<i>Caulobacter crescentus</i>	ATCC 19089
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	ATCC 33384
<i>Neisseria meningitis</i>	ATCC 6253
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	ATCC 11166
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560
<i>Lactococcus lactis</i>	ATCC 7962
<i>Prochlorococcus marinus</i>	PCC7118
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	ATCC 12980

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metF-kodierende Sequenz eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51 und 53 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, umfasst.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metF-kodierende Sequenz für ein Protein mit metF-Aktivität kodiert, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52 und 54 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metF-Aktivität steht, umfasst.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metF-Sequenz eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA ist.
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, wobei man
- a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metF-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
- b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metF-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde
- 25 9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metF-Sequenz überexprimiert wird.

10. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist oder derart mutiert ist, dass es durch Stoffwechselmetabolite nicht in seiner Aktivität beeinflusst wird.
- 5
11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet ist, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.
- 10
12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter
- 15 a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,
b) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,
c) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,
d) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,
e) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,
- 20 f) dem für die Homoserin O-Acetyltransferase kodierenden Gen metA,
g) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,
h) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,
i) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,
j) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierenden Gen metY,
25 k) dem für die Vitamin B12 abhängige Methionin-Synthase kodierende Gen meth,
l) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierenden Gen serC,
m) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodierenden Gen serB,
n) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodierenden Gen cysE, und
30 o) dem für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierenden Gen hom,

überexprimiert oder so mutiert ist, dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden.

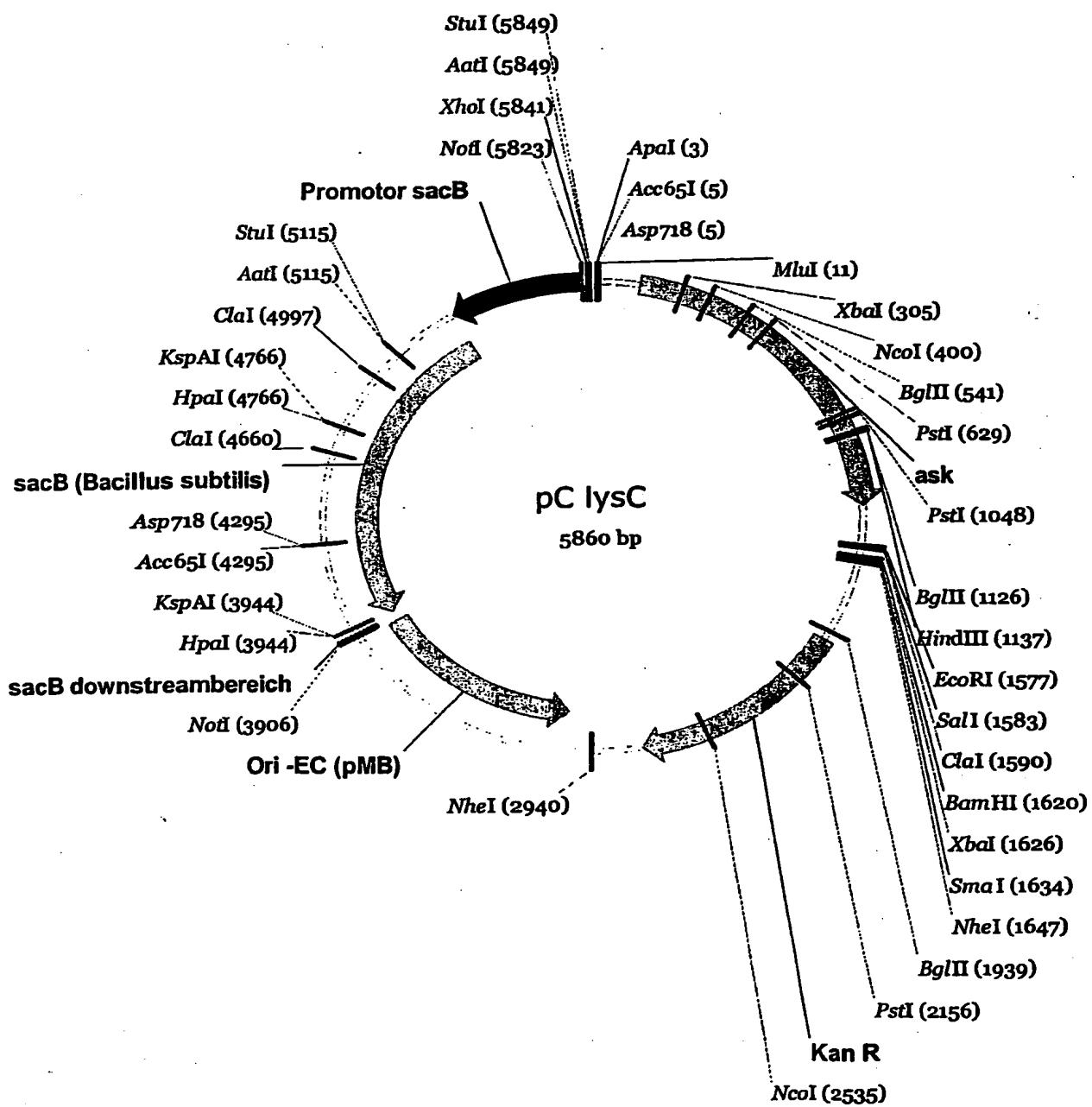
13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter
- a) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen *thrB*,
 - b) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen *ilvA*,
 - c) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen *thrC*
 - d) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen *ddh*
 - e) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen *pck*,
 - f) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen *pgi*,
 - g) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen *poxB*,
 - h) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen *dapA*,
 - i) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen *dapB*; oder
 - j) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen

durch Veränderung der Expressionsrate oder durch Einführung einer gezielten Mutation
abschwächt ist.

14. Verfahren gemäß einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* einsetzt.
15. Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst
- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
 - b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
 - c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
 - d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.
16. Verfahren gemäß Anspruch 15, wobei man Mikroorganismen gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 14 einsetzt.

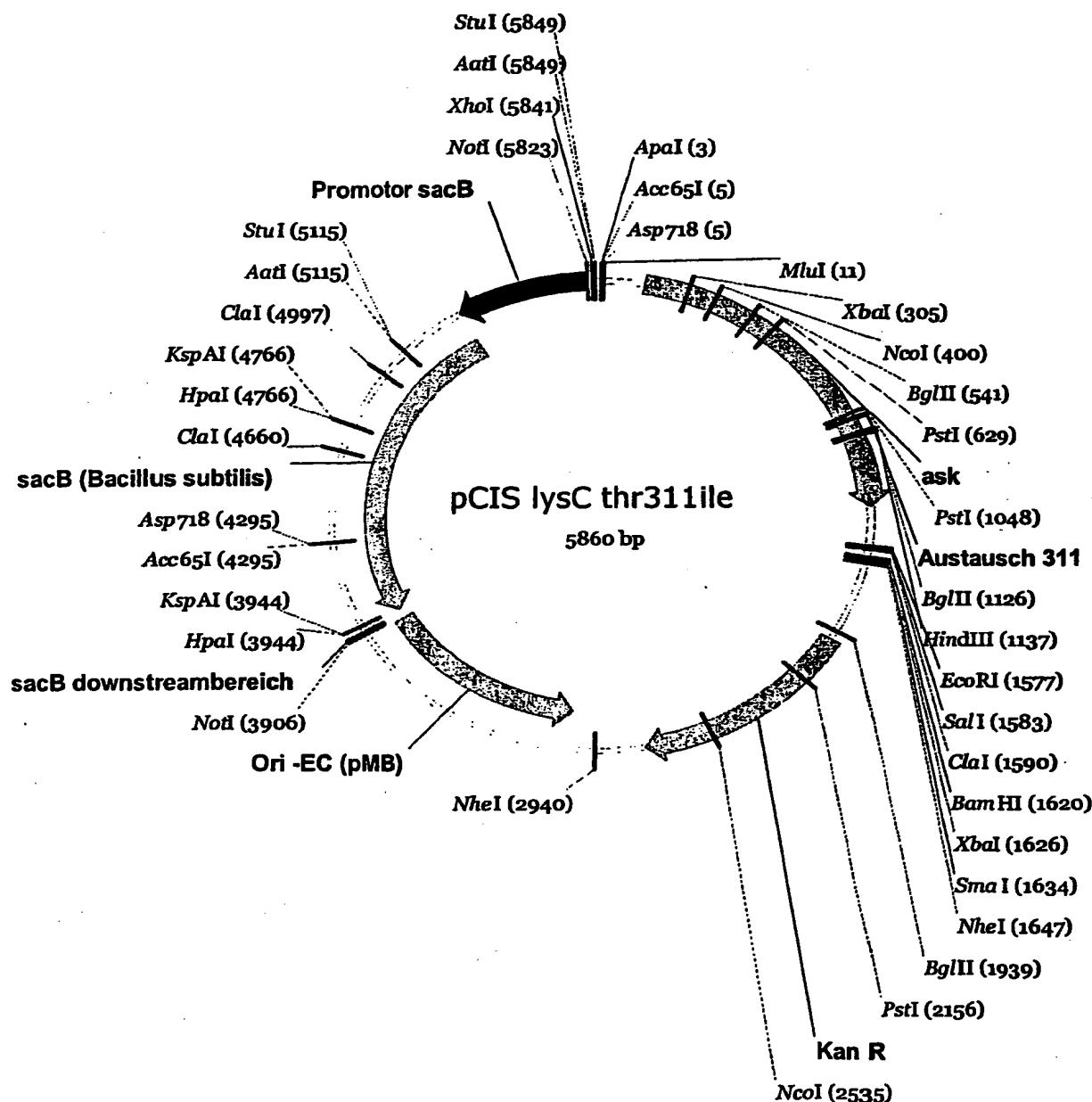
1/3

Fig. 1



THIS PAGE BLANK (USPTO)

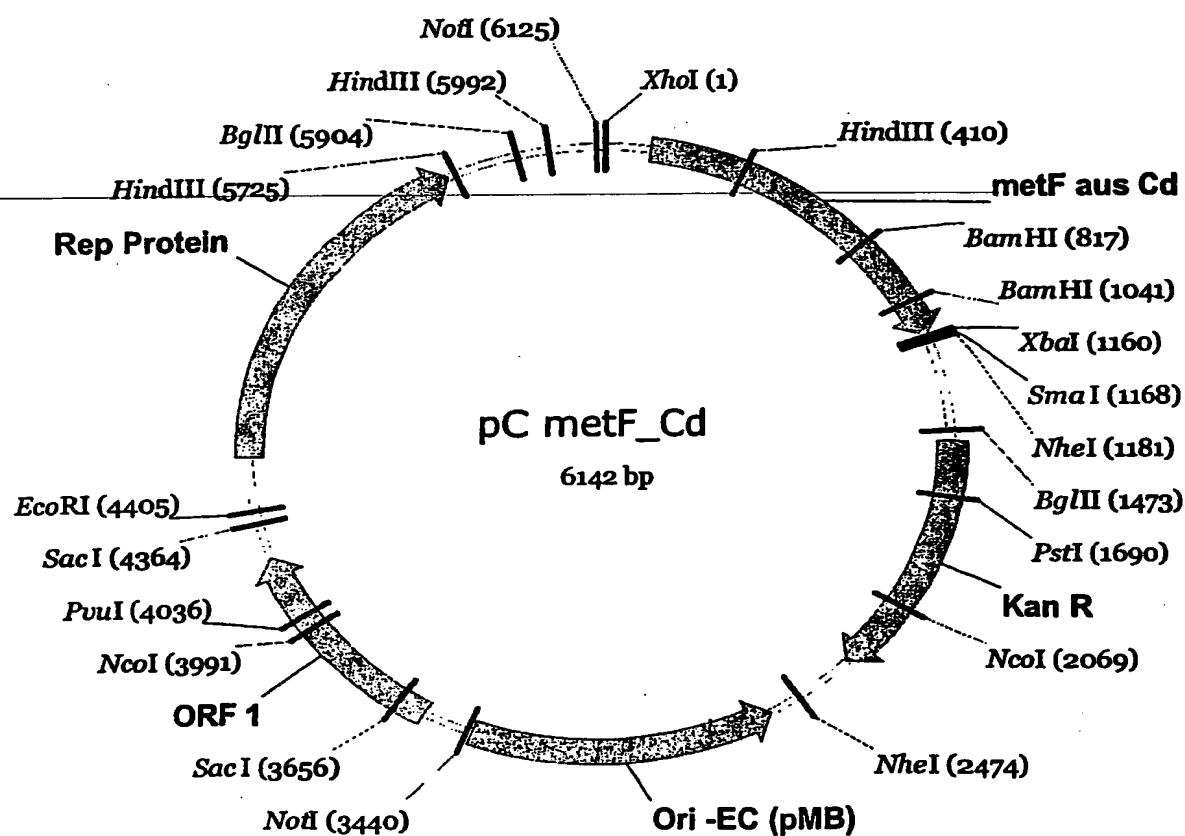
2/3

Fig. 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

3/3

Fig. 3



THIS PAGE BLANK (USPTO)

SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Aktiengesellschaft

<120> MetF

<130> M/43126

<140>

<141>

<160> 66

<210> 1

<211> 984

<212> DNA

<213> corynebacterium diphtheriae

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (981)

<223> RD101260

<400> 1

atg tct gca caa ccg cta cct gct gcg tat cag cgc aca atc acc gat	48
Met Ser Ala Gln Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Gln Arg Thr Ile Thr Asp	
1 5 10 15	

gtc att tcc atg cca aca ccg ggc cag gtt ccg ttt tct gta gag ttt	96
Val Ile Ser Met Pro Thr Pro Gly Gln Val Pro Phe Ser Val Glu Phe	
20 25 30	

atg ccg cca cga gat gag gca gca gaa gag cga ctc tgg aaa gcc gcc	144
Met Pro Pro Arg Asp Glu Ala Ala Glu Glu Arg Leu Trp Lys Ala Ala	
35 40 45	

gaa gca ttt cac gac tta gga gcc tct ttt gtc tcc gtt act tat ggt	192
Glu Ala Phe His Asp Leu Gly Ala Ser Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly	
50 55 60	

gca ggc gga tct agc cgc gag cgc aca atg cgt gtc gcg cac aag ctt	240
Ala Gly Gly Ser Ser Arg Glu Arg Thr Met Arg Val Ala His Lys Leu	
65 70 75 80	

tct cgt cat ccg ttg acc acg ctc gtt cat ctc acg ctt gtg gaa cac	288
Ser Arg His Pro Leu Thr Leu Val His Leu Thr Leu Val Glu His	
85 90 95	

acc caa gaa gaa tta gaa gaa att ctg tgc act tat gcg tcc cac ggg	336
Thr Gln Glu Glu Leu Glu Ile Leu Cys Thr Tyr Ala Ser His Gly	
100 105 110	

ttg tct aac tta ctt gcc ttg cga ggc gat ccc cct ggc act gac ccg	384
Leu Ser Asn Leu Leu Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Thr Asp Pro	
115 120 125	

atg gct ccg tgg gtc cct acc gca ggc ggc cta gat tat gcc aaa gat	432
Met. Ala Pro Trp Val Pro Thr Ala Gly Gly Leu Asp Tyr Ala Lys Asp	
130 135 140	

ttg atc gac ctc gtg cgc aag act gag cag acc tcg cac ttt cag gta	480
---	-----

Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Thr Glu Gln Thr Ser His Phe Gln Val
 145 150 155 160

gga att gct agt ttc cca gaa ggg cac tac cga gcg cct agc att gag 528
 Gly Ile Ala Ser Phe Pro Glu Gly His Tyr Arg Ala Pro Ser Ile Glu
 165 170 175

gcg gat acg caa ttt aca ttg gaa aag ctg cga gct ggc gca gag ttt 576
 Ala Asp Thr Gln Phe Thr Leu Glu Lys Leu Arg Ala Gly Ala Glu Phe
 180 185 190

tcg att acc cag atg ttt ttt gat gtc gat cac tat tta cga ctg cga 624
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Asp Val Asp His Tyr Leu Arg Leu Arg
 195 200 205

gat cgc ttg gtt aag gcg gat cct gaa cat gga tca aag ccg atc atc 672
 Asp Arg Leu Val Lys Ala Asp Pro Glu His Gly Ser Lys Pro Ile Ile
 210 215 220

cca gga ctt atg ccc att acc agc ttg agg tcg gtt cgt agg cag atg 720
 Pro Gly Leu Met Pro Ile Thr Ser Leu Arg Ser Val Arg Arg Gln Met
 225 230 235 240

gaa tta gca ggt gcc acc ttg cct aag gct tta gaa aaa cgg ctt ctc 768
 Glu Leu Ala Gly Ala Thr Leu Pro Lys Ala Leu Glu Lys Arg Leu Leu
 245 250 255

gac gca gcg cgc ggc gat gag gaa gct cat cgc ggc gat att cgc aaa 816
 Asp Ala Ala Arg Gly Asp Glu Glu Ala His Arg Gly Asp Ile Arg Lys
 260 265 270

gta gga atc gaa gtc act act gag atg gca cag cgt ctt att tct gaa 864
 Val Gly Ile Glu Val Thr Thr Glu Met Ala Gln Arg Leu Ile Ser Glu
 275 280 285

ggg atc cca gac atc cat ttc atg acc atg aat tat gtt cga gcg acc 912
 Gly Ile Pro Asp Ile His Phe Met Thr Met Asn Tyr Val Arg Ala Thr
 290 295 300

caa gaa gta ctc cat aat ctc ggc atg gcg ccc gcg tgg gga aca cag 960
 Gln Glu Val Leu His Asn Leu Gly Met Ala Pro Ala Trp Gly Thr Gln
 305 310 315 320

caa ggc cac gac gct att cgc taa 984
 Gln Gly His Asp Ala Ile Arg
 325

<210> 2
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> corynebacterium diphtheriae

<400> 2
 Met Ser Ala Gln Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Gln Arg Thr Ile Thr Asp
 1 5 10 15

Val Ile Ser Met Pro Thr Pro Gly Gln Val Pro Phe Ser Val Glu Phe
 20 25 30

Met Pro Pro Arg Asp Glu Ala Ala Glu Glu Arg Leu Trp Lys Ala Ala

35	40	45
Glu Ala Phe His Asp Leu Gly Ala Ser Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly		
50	55	60
Ala Gly Gly Ser Ser Arg Glu Arg Thr Met Arg Val Ala His Lys Leu		
65	70	75
Ser Arg His Pro Leu Thr Thr Leu Val His Leu Thr Leu Val Glu His		
85	90	95
Thr Gln Glu Glu Leu Glu Glu Ile Leu Cys Thr Tyr Ala Ser His Gly		
100	105	110
Leu Ser Asn Leu Leu Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Thr Asp Pro		
115	120	125
Met Ala Pro Trp Val Pro Thr Ala Gly Gly Leu Asp Tyr Ala Lys Asp		
130	135	140
Leu Ile Asp Leu Val Arg Lys Thr Glu Gln Thr Ser His Phe Gln Val		
145	150	155
Gly Ile Ala Ser Phe Pro Glu Gly His Tyr Arg Ala Pro Ser Ile Glu		
165	170	175
Ala Asp Thr Gln Phe Thr Leu Glu Lys Leu Arg Ala Gly Ala Glu Phe		
180	185	190
Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Asp Val Asp His Tyr Leu Arg Leu Arg		
195	200	205
Asp Arg Leu Val Lys Ala Asp Pro Glu His Gly Ser Lys Pro Ile Ile		
210	215	220
Pro Gly Leu Met Pro Ile Thr Ser Leu Arg Ser Val Arg Arg Gln Met		
225	230	235
240		
Glu Leu Ala Gly Ala Thr Leu Pro Lys Ala Leu Glu Lys Arg Leu Leu		
245	250	255
Asp Ala Ala Arg Gly Asp Glu Glu Ala His Arg Gly Asp Ile Arg Lys		
260	265	270
Val Gly Ile Glu Val Thr Thr Glu Met Ala Gln Arg Leu Ile Ser Glu		
275	280	285
Gly Ile Pro Asp Ile His Phe Met Thr Met Asn Tyr Val Arg Ala Thr		
290	295	300
Gln Glu Val Leu His Asn Leu Gly Met Ala Pro Ala Trp Gly Thr Gln		
305	310	315
Gln Gly His Asp Ala Ile Arg		
325		

<210> 3
 <211> 924
 <212> DNA
 <213> Streptomyces lividans

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(921)
<223> RSV00084

<400> 3
atg gcc ctc gga acc gca agc acg agg acg gat cgc gcc cgc acg gtg 48
Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val
1 5 10 15
cgt gac atc ctc gcc acc ggc aag acg acg tac tcg ttc gag ttc tcg 96
Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser
20 25 30
gcg ccg aag acg ccc aag ggc gag aag aac ctc tgg agc gcg ctg cgg 144
Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Lys Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg
35 40 45
cggt gtc gag gcc gtg gcc ccg gac ttc gtc tcc gtg acc tac ggc gcc 192
Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala
50 55 60
ggc ggc tcc acg cgc gcc ggc acg gtc cgc gag acc cag cag atc gtc 240
Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val
65 70 75 80
gcc gac acc acg ctg acc ccg gtg gcc cac ctc acc gcc gtc gac cac 288
Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His
85 90 95
tcc gtc gcc gag ctg cgc aac atc atc ggc cag tac gcc gac gcc ggg 336
Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly
100 105 110
atc cgc aac atg ctg gcc gtg cgc ggc gac ccg ccc ggc gac ccg aac 384
Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn
115 120 125
gcc gac tgg atc gcg cac ccc gag ggc ctg acc tac gcg gcc gaa ctg 432
Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu
130 135 140
gtc agg ctc atc aag gag tcg gga gac ttc tgc gtc ggc gtc gcc gcc 480
Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala
145 150 155 160
ttc ccc gag atg cac ccg cgc tcc gcc gac tgg gac acg gac gtc acg 528
Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr
165 170 175
aac ttc gtc gac aag tgc cgg gcc ggc gac tac gcc atc acc cag 576
Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln
180 185 190
atg ttc ttc cag ccc gac tcc tac ctc cgg ctg cgc gac cgg gtc gcc 624
Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala
195 200 205
gct gcc ggc tgc gcg acc ccg gtc att ccc gag gtc atg ccg gtg acc 672
Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr

210

215

220

agt gtg aag atg ctg gag agg ttg ccg aag ctc agc aac gcc tcg ttc 720
 Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe
 225 230 235 240

ccg gcg gag ctg aaa gag cggtatc ctc aca gcc aag gac gat ccg gcg 768
 Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala
 245 250 255

gct gta cgc tcg atc ggc atc gag ttc gcc acg gag ttc tgc gcg ccg 816
 Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg
 260 265 270

ctg ctg gcc gag gga gtg cca gga ctg cac ttc atc acg ctc aac aac 864
 Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn
 275 280 285

tcc acg gcg acg ctg gaa atc tac gag aac ctg ggc ctg cac cac cca 912
 Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro
 290 295 300

ccg cgg gcc tag 924
 Pro Arg Ala
 305

<210> 4
<211> 307
<212> PRT
<213> Streptomyces lividans

<400> 4
Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val 15
1 5 10 15
Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser 30
20 25 30

Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Lys Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg 45
35 40 45

Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala 60
50 55 60

Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val 80
65 70 75 80

Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His 95
85 90 95

Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly 110
100 105 110

Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn 125
115 120 125

Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu 140
130 135 140

Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr
 165 170 175

Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln
 180 185 190

Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala
 195 200 205

Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr
 210 215 220

Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe
 225 230 235 240

Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala
 245 250 255

Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg
 260 265 270

Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn
 275 280 285

Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro
 290 295 300

Pro Arg Ala
 305

<210> 5
<211> 924
<212> DNA
<213> Streptomyces coelicolor

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(921)
<223> RSX01699

<400> 5
atg gcc ctc gga acc gca agc acg agg acg gat cgc gcc cgc acg gtg 48
Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val
 1 5 10 15

cgt gac atc ctc gcc acc ggc aag acg acg tac tcg ttc gag ttc tcg 96
Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser
 20 25 30

gcg ccg aag acg ccc aag ggc gag agg aac ctc tgg agc gcg ctg cgg 144
Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Arg Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg
 35 40 45

cgg gtc gag gcc gtg gcc ccg gac ttc gtc tcc gtg acc tac ggc gcc 192
Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala
 50 55 60

ggc ggc tcc acg cgc gcc ggc acg gtc cgc gag acc cag cag atc gtc 240

Gly	Gly	Ser	Thr	Arg	Ala	Gly	Thr	Val	Arg	Glu	Thr	Gln	Gln	Ile	Val	
65					70				75			80				
gcc gac acc acg ctg acc ccg gtg gcc cac ctc acc gac gtc gac cac Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His															288	
					85				90			95				
tcc gtc gcc gag ctg cgc aac atc atc ggc cag tac gcc gac gcc ggg Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly															336	
					100				105			110				
atc cgc aac atg ctg gcc gtg cgc ggc gac ccg ccc ggc gac ccg aac Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn															384	
					115				120			125				
gcc gac tgg atc gcg cac ccc gag ggc ctg acc tac gcg gcc gaa ctg Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu															432	
					130				135			140				
gtc agg ctc atc aag gag tcg ggc gac ttc tgc gtc ggc gtc gcg gcc Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala															480	
					145				150			155			160	
ttc ccc gag atg cac ccg cgc tcc gcc gac tgg gac acg gac gtc acg Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr															528	
					165				170			175				
aac ttc gtc gac aag tgc cgg ggc gcc gac tac gcc atc acc cag Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln															576	
					180				185			190				
atg ttc ttc cag ccc gac tcc tat ctc cgg ctg cgc gac cgg gtc gcc Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala															624	
					195				200			205				
gcg gcc ggc tgc gcg acc ccg gtc atc ccc gag gtc atg ccg gtg acc Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr															672	
					210				215			220				
agt gtg aag atg ctg gag agg ttg ccg aag ctc agc aac gcc tcg ttc Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe															720	
					225				230			235			240	
ccg gcg gag ttg aaa gag cgg atc ctc aca gcc aag gac gat ccg gcg Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala															768	
					245				250			255				
gct gta cgc tcg atc ggc atc gag ttc gcc acg gag ttc tgc gcg cgg Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg															816	
					260				265			270				
ctg ctg gcc gag gga gtg cca gga ctg cac ttc atc acg ctc aac aac Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn															864	
					275				280			285				
tcc acg gcg acg ctg gaa atc tac gag aac ctg ggc ctg cac cac cca Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro															912	
					290				295			300				
ccg cgg gcc tag															924	

Pro Arg Ala
305

<210> 6
<211> 307
<212> PRT
<213> Streptomyces coelicolor

<400> 6
Met Ala Leu Gly Thr Ala Ser Thr Arg Thr Asp Arg Ala Arg Thr Val
1 5 10 15
Arg Asp Ile Leu Ala Thr Gly Lys Thr Thr Tyr Ser Phe Glu Phe Ser
20 25 30
Ala Pro Lys Thr Pro Lys Gly Glu Arg Asn Leu Trp Ser Ala Leu Arg
35 40 45
Arg Val Glu Ala Val Ala Pro Asp Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala
50 55 60
Gly Gly Ser Thr Arg Ala Gly Thr Val Arg Glu Thr Gln Gln Ile Val
65 70 75 80
Ala Asp Thr Thr Leu Thr Pro Val Ala His Leu Thr Ala Val Asp His
85 90 95
Ser Val Ala Glu Leu Arg Asn Ile Ile Gly Gln Tyr Ala Asp Ala Gly
100 105 110
Ile Arg Asn Met Leu Ala Val Arg Gly Asp Pro Pro Gly Asp Pro Asn
115 120 125
Ala Asp Trp Ile Ala His Pro Glu Gly Leu Thr Tyr Ala Ala Glu Leu
130 135 140
Val Arg Leu Ile Lys Glu Ser Gly Asp Phe Cys Val Gly Val Ala Ala
145 150 155 160
Phe Pro Glu Met His Pro Arg Ser Ala Asp Trp Asp Thr Asp Val Thr
165 170 175
Asn Phe Val Asp Lys Cys Arg Ala Gly Ala Asp Tyr Ala Ile Thr Gln
180 185 190
Met Phe Phe Gln Pro Asp Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Asp Arg Val Ala
195 200 205
Ala Ala Gly Cys Ala Thr Pro Val Ile Pro Glu Val Met Pro Val Thr
210 215 220
Ser Val Lys Met Leu Glu Arg Leu Pro Lys Leu Ser Asn Ala Ser Phe
225 230 235 240
Pro Ala Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ala Lys Asp Asp Pro Ala
245 250 255
Ala Val Arg Ser Ile Gly Ile Glu Phe Ala Thr Glu Phe Cys Ala Arg
260 265 270

Leu Leu Ala Glu Gly Val Pro Gly Leu His Phe Ile Thr Leu Asn Asn
 275 280 285

Ser Thr Ala Thr Leu Glu Ile Tyr Glu Asn Leu Gly Leu His His Pro
 290 295 300

Pro Arg Ala
 305

<210> 7
 <211> 891
 <212> DNA
 <213> Aquifex aeolicus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(888)
 <223> RAA00346

<400> 7
 atg aaa ata gga gat ata ctg agg aaa gga gtt ttc agt att tct ttt 48
 Met Lys Ile Gly Asp Ile Leu Arg Lys Gly Val Phe Ser Ile Ser Phe
 1 5 10 15

gag ttc ttt cca ccg aag act gaa gag gga gaa aga cag ctc ttt gaa 96
 Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Glu Glu Gly Glu Arg Gln Leu Phe Glu
 20 25 30

act ata agg aaa ctt gag aaa tta aat cct act ttt gta tcc gtt act 144
 Thr Ile Arg Lys Leu Glu Lys Leu Asn Pro Thr Phe Val Ser Val Thr
 35 40 45

tac ggg gca ggt ggt tcg act aga gat aga act agg aat ata gta cag 192
 Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Arg Asn Ile Val Gln
 50 55 60

aaa ata cac gag gaa act aac ctc acc gtt atg gca cac ctc acc tgt 240
 Lys Ile His Glu Glu Thr Asn Leu Thr Val Met Ala His Leu Thr Cys
 65 70 75 80

ata gca cac acg aga gag gag ctt att gat atc ctt caa gat tac aaa 288
 Ile Ala His Thr Arg Glu Glu Leu Ile Asp Ile Leu Gln Asp Tyr Lys
 85 90 95

aac ata ggt ata gag aac att ctc gct ttg agg ggg gac gtt ccg agg 336
 Asn Ile Gly Ile Glu Asn Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Val Pro Arg
 100 105 110

gac aaa ccg gac tgg aga ccg ccg aag ggt gcg tgc aag tat gca aaa 384
 Asp Lys Pro Asp Trp Arg Pro Pro Lys Gly Ala Cys Lys Tyr Ala Lys
 115 120 125

gag ctc gta gaa ctg atc agg aag gag ttc gga gac tgg ttt tct atc 432
 Glu Leu Val Glu Leu Ile Arg Lys Glu Phe Gly Asp Trp Phe Ser Ile
 130 135 140

gga gtg gct tct tat cct gaa gga cat ccg gaa tca ccg aac ctc gag 480
 Gly Val Ala Ser Tyr Pro Glu Gly His Pro Glu Ser Pro Asn Leu Glu
 145 150 155 160

tgg gaa gtg aag tac ttt aag gaa aag gta gag gca ggt gca gac ttc 528
Trp Glu Val Lys Tyr Phe Lys Glu Lys Val Glu Ala Gly Ala Asp Phe
165 170 175

tcg att act cag atg ttt ttc gtg aac gat tac tac tac agg ttt gtg 576
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Val Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Phe Val
 180 185 190

gaa atg tgc aaa aat gca ggg ata gat ata tct ata att ccg gga att 624
 Glu Met Cys Lys Asn Ala Gly Ile Asp Ile Ser Ile Ile Pro Gly Ile
 195 200 205

```

atg cct att act aac ttc aaa cag ata aga aag ttt gct tct ctt tgc 672
Met Pro Ile Thr Asn Phe Lys Gln Ile Arg Lys Phe Ala Ser Leu Cys
    210          215          220

```

gga gcg acg att cca cag agt ctt ata gaa aag ctt gaa aaa gtg gag 720
 Gly Ala Thr Ile Pro Gln Ser Leu Ile Glu Lys Leu Glu Lys Val Glu
 225 230 235 240

gat aaa ccg gaa gaa gta aaa aag ata ggg att gag ttt gcc ata aat 768
Asp Lys Pro Glu Glu Val Lys Lys Ile Gly Ile Glu Phe Ala Ile Asn
245 250 255

cag tgt ttg gat ctc ata gaa cac gga gtt ccg ggg ctt cac ttc tac 816
Gln Cys Leu Asp Leu Ile Glu His Gly Val Pro Gly Leu His Phe Tyr
260 265 270

act ctg aac aag tcc gac gca act ttg aag ata tac gag gct ata aag 864
 Thr Leu Asn Lys Ser Asp Ala Thr Leu Lys Ile Tyr Glu Ala Ile Lys
 275 280 285

gat aaa ata ccg gcc cgt tca act taa
Asp Lys Ile Pro Ala Arg Ser Thr
290 295 891

<210> 8
<211> 296
<212> PRT
<213> Aquifex aeolicus

<400> 8
Met Lys Ile Gly Asp Ile Leu Arg Lys Gly Val Phe Ser Ile Ser Phe
1 5 10 15

Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Glu Glu Gly Glu Arg Gln Leu Phe Glu
20 25 30

Thr Ile Arg Lys Leu Glu Lys Leu Asn Pro Thr Phe Val Ser Val Thr
35 40 45

Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Arg Asn Ile Val Gln
50 55 60

Lys Ile His Glu Glu Thr Asn Leu Thr Val Met Ala His Leu Thr Cys
65 70 75 80

Ile Ala His Thr Arg Glu Glu Leu Ile Asp Ile Leu Gln Asp Tyr Lys
85 90 95

Asn Ile Gly Ile Glu Asn Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Val Pro Arg
 100 105 110
 Asp Lys Pro Asp Trp Arg Pro Pro Lys Gly Ala Cys Lys Tyr Ala Lys
 115 120 125
 Glu Leu Val Glu Leu Ile Arg Lys Glu Phe Gly Asp Trp Phe Ser Ile
 130 135 140
 Gly Val Ala Ser Tyr Pro Glu Gly His Pro Glu Ser Pro Asn Leu Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Val Lys Tyr Phe Lys Glu Lys Val Glu Ala Gly Ala Asp Phe
 165 170 175
 Ser Ile Thr Gln Met Phe Phe Val Asn Asp Tyr Tyr Tyr Arg Phe Val
 180 185 190
 Glu Met Cys Lys Asn Ala Gly Ile Asp Ile Ser Ile Ile Pro Gly Ile
 195 200 205
 Met Pro Ile Thr Asn Phe Lys Gln Ile Arg Lys Phe Ala Ser Leu Cys
 210 215 220
 Gly Ala Thr Ile Pro Gln Ser Leu Ile Glu Lys Leu Glu Lys Val Glu
 225 230 235 240
 Asp Lys Pro Glu Glu Val Lys Lys Ile Gly Ile Glu Phe Ala Ile Asn
 245 250 255
 Gln Cys Leu Asp Leu Ile Glu His Gly Val Pro Gly Leu His Phe Tyr
 260 265 270
 Thr Leu Asn Lys Ser Asp Ala Thr Leu Lys Ile Tyr Glu Ala Ile Lys
 275 280 285
 Asp Lys Ile Pro Ala Arg Ser Thr
 290 295

<210> 9
 <211> 831
 <212> DNA
 <213> Burkholderia cepacia

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(828)
 <223> RBU14992

<400> 9
 atg aac ccg atc gaa ctt tca ttc gaa ttc ttc ccg ccg aaa acg cag 48

Met Asn Pro Ile Glu Leu Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Gln
 1 5 10 15

gaa ggc gtg gac aag ctg cgc gcc acg cgc gcc cag ctc gcc acg ctc 96
 glu gly val asp lys leu arg ala thr arg ala gln leu ala thr leu
 20 25 30

aag ccc aag ttc gtg tcc gtc acg ttc ggc gcc ggc tcg acg caa 144

Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Gln	35	40	45
cag ggc acg ctc gac acc gtc gtc gat atg gcg aag gaa ggg ctc gaa			
Gln Gly Thr Leu Asp Thr Val Val Asp Met Ala Lys Glu Gly Leu Glu	50	55	60
gag ggc ccg cac gtg tcg tgc atc ggc tcg tcg aaa gag agc ctg cgc			
Ala Ala Pro His Val Ser Cys Ile Gly Ser Ser Lys Glu Ser Leu Arg	65	70	75
gac att ctc aac gag tac cgc gca cat ggc atc cgc cat atc gtc gcg			
Ala Ile Leu Asn Glu Tyr Arg Ala His Gly Ile Arg His Ile Val Ala	85	90	95
ctg cgc ggc gat ctg ccg tcc ggc atg ggc gaa gtc ggc gag ctg cgc			
Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Glu Val Gly Glu Leu Arg	100	105	110
tat gcg tcg gaa ctg gtg agc ttt atc cgc gcc gaa ttc ggc gac tgg			
Tyr Ala Ser Glu Leu Val Ser Phe Ile Arg Ala Glu Phe Gly Asp Trp	115	120	125
ttc tgc atc gag gtg gcc ggc tat ccg gaa tac cac ccg cag tcg cgc			
Phe Cys Ile Glu Val Ala Gly Tyr Pro Glu Tyr His Pro Gln Ser Arg	130	135	140
tcg ccg cgt cag gat ctg gaa aac ttc gcc cgc aag gtg aag gcc ggc			
Ser Pro Arg Gln Asp Leu Glu Asn Phe Ala Arg Lys Val Lys Ala Gly	145	150	155
gcc aat tcg gcg atc aca cag tac ttc ttc aat gca gac gcg tat ttc			
Ala Asn Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe	165	170	175
cgt ttc gtc gac gac gcg aga aag ctc ggc gtg gac gtg ccg atc gtg			
Arg Phe Val Asp Asp Ala Arg Lys Leu Gly Val Asp Val Pro Ile Val	180	185	190
ccg ggc atc atg ccg atc acg aac ttc tcg cag ctg atg cgt ttc tcg			
Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Phe Ser Gln Leu Met Arg Phe Ser	195	200	205
gag atg tgc ggc gct gaa gtg cca cgc tgg atc gcg cgc cgg ctg gaa			
Glu Met Cys Gly Ala Glu Val Pro Arg Trp Ile Ala Arg Arg Leu Glu	210	215	220
agc ttc ggc gac gat cgc gag tca att cgc gcg ttc ggg ctg gat gtg			
Ser Phe Gly Asp Asp Arg Glu Ser Ile Arg Ala Phe Gly Leu Asp Val	225	230	235
gtg acg gac ctg tgc agg cgt ctg atc gat gcg aag gtg ccg ggc ctg			
Val Thr Asp Leu Cys Arg Arg Leu Ile Asp Ala Lys Val Pro Gly Leu	245	250	255
cac ttc tac acg cta aac ggc gca gcg gcg acc aag gcg atc tgc gaa			
His Phe Tyr Thr Leu Asn Gly Ala Ala Ala Thr Lys Ala Ile Cys Glu	260	265	270
ccg ttg aac gtt taa			

Arg Leu Asn Val
275

<210> 10
<211> 276
<212> PRT
<213> Burkholderia cepacia

<400> 10		
Met Asn Pro Ile Glu Leu Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Gln		
1	5	10
		15
Glu Gly Val Asp Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ala Gln Leu Ala Thr Leu		
20	25	30
Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Gln		
35	40	45
Gln Gly Thr Leu Asp Thr Val Val Asp Met Ala Lys Glu Gly Leu Glu		
50	55	60
Ala Ala Pro His Val Ser Cys Ile Gly Ser Ser Lys Glu Ser Leu Arg		
65	70	75
Ala Ile Leu Asn Glu Tyr Arg Ala His Gly Ile Arg His Ile Val Ala		
85	90	95
Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Glu Val Gly Glu Leu Arg		
100	105	110
Tyr Ala Ser Glu Leu Val Ser Phe Ile Arg Ala Glu Phe Gly Asp Trp		
115	120	125
Phe Cys Ile Glu Val Ala Gly Tyr Pro Glu Tyr His Pro Gln Ser Arg		
130	135	140
Ser Pro Arg Gln Asp Leu Glu Asn Phe Ala Arg Lys Val Lys Ala Gly		
145	150	155
Ala Asn Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe		
165	170	175
Arg Phe Val Asp Asp Ala Arg Lys Leu Gly Val Asp Val Pro Ile Val		
180	185	190
Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Phe Ser Gln Leu Met Arg Phe Ser		
195	200	205
Glu Met Cys Gly Ala Glu Val Pro Arg Trp Ile Ala Arg Arg Leu Glu		
210	215	220
Ser Phe Gly Asp Asp Arg Glu Ser Ile Arg Ala Phe Gly Leu Asp Val		
225	230	235
Val Thr Asp Leu Cys Arg Arg Leu Ile Asp Ala Lys Val Pro Gly Leu		
245	250	255
His Phe Tyr Thr Leu Asn Gly Ala Ala Ala Thr Lys Ala Ile Cys Glu		
260	265	270

Arg Leu Asn Val
275

<210> 11
<211> 846
<212> DNA
<213> Nitrosomonas europaea

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(843)
<223> RNE02657

<400> 11

atg caa tcc cag aaa aaa ttt acc ccc aca ttc agt ttt gaa ttt ttc	48
Met Gln Ser Gln Lys Lys Phe Thr Pro Thr Phe Ser Phe Glu Phe Phe	
1 5 10 15	

ccg ccg cag aca ccg gaa ggc atg gaa aag ctg cgg gca acg cgc ata	96
Pro Pro Gln Thr Pro Glu Gly Met Glu Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ile	
20 25 30	

cag ctt gct cag ttc aat ccg aag ttt ttt tcg gtg acg ttt ggt gcc	144
Gln Leu Ala Gln Phe Asn Pro Lys Phe Phe Ser Val Thr Phe Gly Ala	
35 40 45	

ggc gga tcc act cgt gaa cgc acg ctc gaa acc gtg ctg gaa att cag	192
Gly Gly Ser Thr Arg Glu Arg Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Ile Gln	
50 55 60	

gca gaa ggc tat ccg gta gcg ccc cat ctt tcc tgt atc ggc tcc acg	240
Ala Glu Gly Tyr Pro Val Ala Pro His Leu Ser Cys Ile Gly Ser Thr	
65 70 75 80	

cgt gac aat atc cgt tcg atc ctt gag aaa tat cac agt cac ggt atc	288
Arg Asp Asn Ile Arg Ser Ile Leu Glu Lys Tyr His Ser His Gly Ile	
85 90 95	

agc cgc att gtg gcg cta cgt ggt gat tta ccc tcc ggc atg gcg cag	336
Ser Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Ala Gln	
100 105 110	

gcg gga gaa ttc cgc tac gcc aac gag ctg gta gca ttt atc cgc aag	384
Ala Gly Glu Phe Arg Tyr Ala Asn Glu Leu Val Ala Phe Ile Arg Lys	
115 120 125	

gag ttc ggt gat acc ttc tgg atc gaa gtg gcg gct tat ccg gaa tat	432
Glu Phe Gly Asp Thr Phe Trp Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Tyr	
130 135 140	

cat cca caa gcc cgc tcc gct ctg gag gat ttc acc aat ttc aga cga	480
His Pro Gln Ala Arg Ser Ala Leu Glu Asp Phe Thr Asn Phe Arg Arg	
145 150 155 160	

aaa gtc gaa gca ggt tcc aat gca gcg att acc cag ttt ttc tat aac	528
Lys Val Glu Ala Gly Ser Asn Ala Ala Ile Thr Gln Phe Phe Tyr Asn	
165 170 175	

gtg gat gcc tat ctg cat ttc gta gag atg tgt gaa gct gcg gat ctg 576
 Val Asp Ala Tyr Leu His Phe Val Glu Met Cys Glu Ala Ala Asp Leu
 180 185 190

aat atc ccg atc gtt ccc ggc atc atg ccg atc agc aaa ttt tct caa 624
 Asn Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Ser Lys Phe Ser Gln
 195 200 205

ctg gca aga ttt tcg gat ggc tgt gga gca gaa att cca cgc tgg att 672
 Leu Ala Arg Phe Ser Asp Gly Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile
 210 215 220

cgc aga aaa ctg gaa agc ttc ggt gat gat att ccg tct atc cag gca 720
 Arg Arg Lys Leu Glu Ser Phe Gly Asp Asp Ile Pro Ser Ile Gln Ala
 225 230 235 240

tcc ggg ctg gat gtc gtc aca gcg tta tgt gct cgt ctg ctg gaa gcc 768
 Phe Gly Leu Asp Val Val Thr Ala Leu Cys Ala Arg Leu Leu Glu Ala
 245 250 255

ggc gca ccc ggc ctg cat ttc tac aca ctc aac tcc gcc gta cta ccc 816
 Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Ser Ala Val Leu Pro
 260 265 270

aca aaa atc tgg caa cgc ctg ggg tta tag 846
 Thr Lys Ile Trp Gln Arg Leu Gly Leu
 275 280

<210> 12
<211> 281
<212> PRT
<213> Nitrosomonas europaea

<400> 12
 Met Gln Ser Gln Lys Lys Phe Thr Pro Thr Phe Ser Phe Glu Phe Phe
 1 5 10 15

Pro Pro Gln Thr Pro Glu Gly Met Glu Lys Leu Arg Ala Thr Arg Ile
 20 25 30

Gln Leu Ala Gln Phe Asn Pro Lys Phe Phe Ser Val Thr Phe Gly Ala
 35 40 45

Gly Gly Ser Thr Arg Glu Arg Thr Leu Glu Thr Val Leu Glu Ile Gln
 50 55 60

Ala Glu Gly Tyr Pro Val Ala Pro His Leu Ser Cys Ile Gly Ser Thr
 65 70 75 80

Arg Asp Asn Ile Arg Ser Ile Leu Glu Lys Tyr His Ser His Gly Ile
 85 90 95

Ser Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Ala Gln
 100 105 110

Ala Gly Glu Phe Arg Tyr Ala Asn Glu Leu Val Ala Phe Ile Arg Lys
 115 120 125

Glu Phe Gly Asp Thr Phe Trp Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Tyr

130

135

140

His Pro Gln Ala Arg Ser Ala Leu Glu Asp Phe Thr Asn Phe Arg Arg
 145 150 155 160

Lys Val Glu Ala Gly Ser Asn Ala Ala Ile Thr Gln Phe Phe Tyr Asn
 165 170 175

Val Asp Ala Tyr Leu His Phe Val Glu Met Cys Glu Ala Ala Asp Leu
 180 185 190

Asn Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Ser Lys Phe Ser Gln
 195 200 205

Leu Ala Arg Phe Ser Asp Gly Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile
 210 215 220

Arg Arg Lys Leu Glu Ser Phe Gly Asp Asp Ile Pro Ser Ile Gln Ala
 225 230 235 240

Phe Gly Leu Asp Val Val Thr Ala Leu Cys Ala Arg Leu Leu Glu Ala
 245 250 255

Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Ser Ala Val Leu Pro
 260 265 270

Thr Lys Ile Trp Gln Arg Leu Gly Leu
 275 280

<210> 13

<211> 873

<212> DNA

<213> Pseudomonas aeruginosa

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(870)

<223> RPA03308

<400> 13

gtg gtc gcg tcc aag gaa ccg atc atg agt cag agc gaa cgc cgt ttc 48
 Val Val Ala Ser Lys Glu Pro Ile Met Ser Gln Ser Glu Arg Arg Phe
 1 5 10 15

agc ttc gag ttc ccg gcg aag acc gag gcc ggc cat gaa aag ctg 96
 Ser Phe Glu Phe Pro Ala Lys Thr Glu Ala Gly His Glu Lys Leu
 20 25 30

ttg gcc acc gcc cgc aac ctg gcg ggc tac aag ccc gac ttc ttc tcc 144
 Leu Ala Thr Ala Arg Asn Leu Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser
 35 40 45

tgc acc tac ggc gcc gga tcc acc cgc gac cgc acg ttg agt acc 192
 Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Leu Ser Thr
 50 55 60

gtg ctg caa ctg gac ggc gag gtg aag gtg ccg acc gcg ccg cac ctg 240
 Val Leu Gln Leu Asp Gly Glu Val Lys Val Pro Thr Ala Pro His Leu
 65 70 75 80

tcc tgt gtc ggc gac tcg aaa gcc gag ttg cgc gaa ctg ctc ggc cgc Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Ala Glu Leu Arg Glu Leu Leu Gly Arg	288
85 90 95	
tac cgc gag gcc ggc atc cgc cgc atc gtc gcc ctg cgc ggc gac ctg Tyr Arg Glu Ala Gly Ile Arg Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu	336
100 105 110	
ccg tcg ggc atg ggc atg gcc agc ggc gaa ctg cgc tac gcc aac gaa Pro Ser Gly Met Gly Met Ala Ser Gly Glu Leu Arg Tyr Ala Asn Glu	384
115 120 125	
ctg gtg gac ttc atc cgc acc gag acc ggc gac cac ttc cac atc gag Leu Val Asp Phe Ile Arg Thr Glu Thr Gly Asp His Phe His Ile Glu	432
130 135 140	
gtc gcc gcc tat ccg gag gtc cac ccc cag gcg cgc agc ttc gag gat Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Gln Ala Arg Ser Phe Glu Asp	480
145 150 155 160	
gac ctg gcg aac ttc gtg cgc aag gtg aag gcc ggc gcc agc agc gcc Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Val Lys Ala Gly Ala Ser Ser Ala	528
165 170 175	
atc acc cag tac ttc ttc aac gcc gat gcc tat ttc tac ttc gtc gag Ile Thr Gln Tyr Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe Tyr Phe Val Glu	576
180 185 190	
cgg gtc gcc aag ctc ggc gtg gac atc ccg gtg gtc ccc ggc atc atg Arg Val Ala Lys Leu Gly Val Asp Ile Pro Val Val Pro Gly Ile Met	624
195 200 205	
ccg atc acc aac tac tcc aag ctg gcg cgc ttc tcc gac gcc tgc ggc Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly	672
210 215 220	
gcc gaa ctg ccg cgc tgg atc cgc aag caa ctg gaa gcc tac ggc gac Ala Glu Leu Pro Arg Trp Ile Arg Lys Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp	720
225 230 235 240	
gac agc cgc agc atc cag gcc ttc ggc gag cag gtc atc agc gag atg Asp Ser Arg Ser Ile Gln Ala Phe Gly Glu Gln Val Ile Ser Glu Met	768
245 250 255	
tgc gaa cgc ctg ctg gag ggc ggc gca ccg gga ctg cat ttc tat act Cys Glu Arg Leu Leu Glu Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr	816
260 265 270	
ttg aac cag gcc gat ccg agc ctg gcg atc tgg aag aat ctc cag ctg Leu Asn Gln Ala Asp Pro Ser Leu Ala Ile Trp Lys Asn Leu Gln Leu	864
275 280 285	
cca cgc tga Pro Arg 290	873

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 14
Val Val Ala Ser Lys Glu Pro Ile Met Ser Gln Ser Glu Arg Arg Phe
1 5 10 15
Ser Phe Glu Phe Phe Pro Ala Lys Thr Glu Ala Gly His Glu Lys Leu
20 25 30
Leu Ala Thr Ala Arg Asn Leu Ala Gly Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser
35 40 45
Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr Arg Asp Arg Thr Leu Ser Thr
50 55 60
Val Leu Gln Leu Asp Gly Glu Val Lys Val Pro Thr Ala Pro His Leu
65 70 75 80
Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Ala Glu Leu Arg Glu Leu Leu Gly Arg
85 90 95
Tyr Arg Glu Ala Gly Ile Arg Arg Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu
100 105 110
Pro Ser Gly Met Gly Met Ala Ser Gly Glu Leu Arg Tyr Ala Asn Glu
115 120 125
Leu Val Asp Phe Ile Arg Thr Glu Thr Gly Asp His Phe His Ile Glu
130 135 140
Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Gln Ala Arg Ser Phe Glu Asp
145 150 155 160
Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Val Lys Ala Gly Ala Ser Ser Ala
165 170 175
Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp Ala Tyr Phe Tyr Phe Val Glu
180 185 190
Arg Val Ala Lys Leu Gly Val Asp Ile Pro Val Val Pro Gly Ile Met
195 200 205
Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly
210 215 220
Ala Glu Leu Pro Arg Trp Ile Arg Lys Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp
225 230 235 240
Asp Ser Arg Ser Ile Gln Ala Phe Gly Glu Gln Val Ile Ser Glu Met
245 250 255
Cys Glu Arg Leu Leu Glu Gly Gly Ala Pro Gly Leu His Phe Tyr Thr
260 265 270
Leu Asn Gln Ala Asp Pro Ser Leu Ala Ile Trp Lys Asn Leu Gln Leu
275 280 285
Pro Arg
290

<210> 15
<211> 828
<212> DNA
<213> Xylella almond

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (825)
<223> RXFX00359

<400> 15					48
atg att cca atc agc ttc gag ttt tat cca ccc aaa aac gac gat caa					
Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln					
1 5 10 15					
cgc gca cag ttg gac agg aca gca aac cgg cta cgc gca ttc gca cca					96
Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro					
20 25 30					
gaa tac gtc tcc tgc acc ttc ggc gcc ggt ggc tcc aca ctc agt tac					144
Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Ser Thr Leu Ser Tyr					
35 40 45					
acc tca gaa aca gtg cgc cat ctc agc caa cac cac ggc ttt gac gcc					192
Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Ala					
50 55 60					
gca ccg cat ctg tcc tgt gtg ggc agt cgc caa gaa atc cgc gaa					240
Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu					
65 70 75 80					
ctt ctc aaa ctg tac cgc gcg att ggc tgc caa cgc atc gtg gcg cta					288
Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu					
85 90 95					
cgc ggc gat ctc ccc tcg ggc atg ggc cac ccc ggc gac ctc cgc tac					336
Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr					
100 105 110					
gca gct gac ctg att acc ttc atc cgt acc gag cat ggc gat cac ttc					384
Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Thr Glu His Gly Asp His Phe					
115 120 125					
cac cta gag atc ggc gca tac ccg gaa acc cac cca caa gcc agc aac					432
His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn					
130 135 140					
aca ctg aac gac ctt cac tat ttc aaa gcc aaa gcc gat gca ggc gcc					480
Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala					
145 150 155 160					
gat gcg gca atc act caa tac ttt tat aac cca gac gcc tat ttc cac					528
Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His					
165 170 175					
ttc gtc gac gca gtg cag cgc ctg ggc gtc acc atc ccc att gtt gcc					576
Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala					
180 185 190					
gga gtc atg ccc atc tcc aac ttt gac cag ttg cgc cat ttc tcc gaa					624

Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu
195 200 205

```

caa tgc ggc gcc gaa ata ccc cgc tgg att aca aaa aaa atg cag gct 672
Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala
      210          215          220

```

```

tac ggc gac gac acc aaa tcg ata cgc gcg ttc ggt gcc gac gtc gtg    720
Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val
225          230          235          240

```

acc gca tta tgt gag cgg cta atc gct ggc ggc gca ccg ggg ctg cac 768
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His
 245 250 255

ttc tac acg ctc aac cta gcc aaa cca agc acc caa gtg ctg caa cgcc 816
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg
 260 265 270

<210> 16
<211> 275
<212> PRT
<213> *Xylella* almond

<400> 16
Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln
1 5 10 15

Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro
20 25 30

Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr
35 40 45

Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Ala

Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu
65 70 75

Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu
85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98

Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr
100 105 110

Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Thr Glu His Gly Asp His Phe
115 120 125

His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn
130 135 140

Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala
145 150 155

Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His
 165 170 175
 Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala
 180 185 190
 Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu
 195 200 205
 Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala
 210 215 220
 Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val
 225 230 235 240
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His
 245 250 255
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg
 260 265 270
 Leu Gly Tyr
 275

<210> 17
 <211> 828
 <212> DNA
 <213> Xylella oleander

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(825)
 <223> RXFY01676

<400> 17 48
 atg att cca atc agc ttc gag ttt tat cca ccc aaa aac gac gat caa
 Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln
 1 5 10 15
 5

cgc gca cag ttg gac agg aca gca aac cgg cta cgc gca ttc gca cca 96
 Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro
 20 25 30
 25

gaa tac gtc tcc tgc acc ttc ggc gcc ggc tcc aca ctc agt tac 144
 Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Ser Thr Leu Ser Tyr
 35 40 45
 35

acc tca gaa aca gtg cgc cat ctc agt caa cac cac ggc ttt gac acc 192
 Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Thr
 50 55 60
 50

gca ccg cat ctg tcc tgt gtg ggc agt cgc caa gaa atc cgc gaa 240
 Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu
 65 70 75 80
 65

ctt ctc aaa ctg tac cgc gcg att ggc tgc caa cgc atc gtg gcg cta 288
 Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu
 85 90 95
 85

cgc ggc gat ctc ccc tcg ggc atg ggc cac ccc ggc gac ctc cgc tac	336
Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr	
100	105
110	
gca gct gac ctg att acc ttc atc cgt gcc gag cat ggc gat cac ttc	384
Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Ala Glu His Gly Asp His Phe	
115	120
125	
cac cta gag atc ggc gca tac ccg gaa acc cac cca caa gcc agc aac	432
His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn	
130	135
140	
aca ctg aac gac ctt cac tat ttc aaa gcc aaa gcc gat gca ggc gcc	480
Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala	
145	150
155	160
gat gcg gca atc actcaa tac ttt tac aac cca gac gcc tat ttc cac	528
Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His	
165	170
175	
ttc gtc gac gca gtg cag cgc ctg ggc gtc acc atc ccc att gtt gcc	576
Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala	
180	185
190	
gga gtc atg ccc atc tcc aac ttt gac cag ttg cgc cat ttc tcc gaa	624
Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu	
195	200
205	
caa tgc ggc gcc gaa ata ccc cgc tgg att aca aaa aaa atg cag gct	672
Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala	
210	215
220	
tac ggc gat gac acc aaa tcg ata cgc gcg ttc ggt gcc gac gtc gtg	720
Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val	
225	230
235	240
acc gca cta tgt gag cgg cta atc gct ggc ggc gca ccg ggg ctg cac	768
Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His	
245	250
255	
ttc tac acg ctc aac cta gcc aaa cca agc acc caa gtg ctg caa cgc	816
Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg	
260	265
270	
tta ggc tat tga	828
Leu Gly Tyr	
275	

<210> 18
<211> 275
<212> PRT
<213> Xylella oleander

<400> 18
Met Ile Pro Ile Ser Phe Glu Phe Tyr Pro Pro Lys Asn Asp Asp Gln
1 5 10 15

23

Arg Ala Gln Leu Asp Arg Thr Ala Asn Arg Leu Arg Ala Phe Ala Pro
 20 25 30
 Glu Tyr Val Ser Cys Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Thr Leu Ser Tyr
 35 40 45
 Thr Ser Glu Thr Val Arg His Leu Ser Gln His His Gly Phe Asp Thr
 50 55 60
 Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Gly Ser Arg Gln Glu Ile Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Leu Lys Leu Tyr Arg Ala Ile Gly Cys Gln Arg Ile Val Ala Leu
 85 90 95
 Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly His Pro Gly Asp Leu Arg Tyr
 100 105 110
 Ala Ala Asp Leu Ile Thr Phe Ile Arg Ala Glu His Gly Asp His Phe
 115 120 125
 His Leu Glu Ile Gly Ala Tyr Pro Glu Thr His Pro Gln Ala Ser Asn
 130 135 140
 Thr Leu Asn Asp Leu His Tyr Phe Lys Ala Lys Ala Asp Ala Gly Ala
 145 150 155 160
 Asp Ala Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Tyr Asn Pro Asp Ala Tyr Phe His
 165 170 175
 Phe Val Asp Ala Val Gln Arg Leu Gly Val Thr Ile Pro Ile Val Ala
 180 185 190
 Gly Val Met Pro Ile Ser Asn Phe Asp Gln Leu Arg His Phe Ser Glu
 195 200 205
 Gln Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Thr Lys Lys Met Gln Ala
 210 215 220
 Tyr Gly Asp Asp Thr Lys Ser Ile Arg Ala Phe Gly Ala Asp Val Val
 225 230 235 240
 Thr Ala Leu Cys Glu Arg Leu Ile Ala Gly Gly Ala Pro Gly Leu His
 245 250 255
 Phe Tyr Thr Leu Asn Leu Ala Lys Pro Ser Thr Gln Val Leu Gln Arg
 260 265 270
 Leu Gly Tyr
 275

<210> 19
 <211> 846

<212> DNA
 <213> *Pseudomonas fluorescens*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(843)

<223> RPU04845

<400> 19
atg tcc caa gac cgt cgc tac agc ttc gag ttc ttc ccg acc aag acc 48
Met Ser Gln Asp Arg Arg Tyr Ser Phe Glu Phe Phe Pro Thr Lys Thr
1 5 10 15

gat gct ggg cat gaa aaa ctg ctc gcc act gcc cgt cag ctg gcc acc 96
Asp Ala Gly His Glu Lys Leu Leu Ala Thr Ala Arg Gln Leu Ala Thr
20 25 30

tat aag cct gac ttc ttt tcc tgc acc tac ggc gct ggc ggt tcg acc 144
Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Ser Thr
35 40 45

cgt gac cgc acg ctg aac acc gtt ctg cag ctg gaa agc gaa gtc aaa 192
Arg Asp Arg Thr Leu Asn Thr Val Leu Gln Leu Glu Ser Glu Val Lys
50 55 60

atc ccc gcc gca ccg cac ctg tcg tgc gtc ggc gac agc aag gac gac 240
Ile Pro Ala Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Asp Asp
65 70 75 80

ctg cgc ggc ctg ctg aac gag tac aag gcc gcc ggc atc aag cgc atc 288
Leu Arg Gly Leu Leu Asn Glu Tyr Lys Ala Ala Gly Ile Lys Arg Ile
85 90 95

gtc gcc ctg cgc ggt gac ctg ccg tcc ggc atg ggc atg acc agc ggc 336
Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Met Thr Ser Gly
100 105 110

gag ctg cgt cac gcc aat gaa ctg gtt gaa ttc att cgt gaa gaa acc 384
Glu Leu Arg His Ala Asn Glu Leu Val Glu Phe Ile Arg Glu Glu Thr
115 120 125

ggc aat cat ttc cac atc gaa gtc gcc gcc tac ccg gag atg cat ccg 432
Gly Asn His Phe His Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Met His Pro
130 135 140

caa gcg cgc aac tac gaa gac gat ctc gcc aac ttc gtg cgc aag gcc 480
Gln Ala Arg Asn Tyr Glu Asp Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Ala
145 150 155 160

cgt gcc ggc gcc gac agc gcg atc acc cag tac ttc ttc aac gcc gac 528
Arg Ala Gly Ala Asp Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp
165 170 175

agc tac ttc tac ttc gtc gac cgt ttg cag gcg ctg ggc gtg gac att 576
Ser Tyr Phe Tyr Phe Val Asp Arg Leu Gln Ala Leu Gly Val Asp Ile
180 185 190

ccg gtg gta ccg ggg atc atg ccg atc acc aac tac agc aaa ctc gcg 624
Pro Val Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala
195 200 205

cgc ttc tcc gat gcc tgc ggt gcg gaa atc ccg cgc tgg atc cgc aag 672
Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Arg Lys
210 215 220

cag ctg gaa gcc tac ggc gat gac agc caa agc att cag cgc ttt ggc 720
Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Asp Ser Gln Ser Ile Gln Arg Phe Gly

25

225	230	235	240	
				768
gaa caa gtc gtc acg gaa atg tgc gaa cgc ctg ctg caa ggc ggc ggc Glu Gln Val Val Thr Glu Met Cys Glu Arg Leu Leu Gln Gly Gly Ala				
245		250	255	
ccc ggc ctg cac ttc tat tcc atg aac cag gcc gaa cca agc ctg gcg Pro Gly Leu His Phe Tyr Ser Met Asn Gln Ala Glu Pro Ser Leu Ala				816
260		265	270	
atc tgg aac aac ctg aag ctg ccg cgc taa Ile Trp Asn Asn Leu Lys Leu Pro Arg				846
275		280		
 D <210> 20				
<211> 281				
<212> PRT				
<213> <i>Pseudomonas fluorescens</i>				
 <400> 20				
Met Ser Gln Asp Arg Arg Tyr Ser Phe Glu Phe Phe Pro Thr Lys Thr				
1 5 10 15				
Asp Ala Gly His Glu Lys Leu Leu Ala Thr Ala Arg Gln Leu Ala Thr				
20 25 30				
Tyr Lys Pro Asp Phe Phe Ser Cys Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Ser Thr				
35 40 45				
Arg Asp Arg Thr Leu Asn Thr Val Leu Gln Leu Glu Ser Glu Val Lys				
50 55 60				
Ile Pro Ala Ala Pro His Leu Ser Cys Val Gly Asp Ser Lys Asp Asp				
65 70 75 80				
Leu Arg Gly Leu Leu Asn Glu Tyr Lys Ala Ala Gly Ile Lys Arg Ile				
85 90 95				
Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Ser Gly Met Gly Met Thr Ser Gly				
100 105 110				
Glu Leu Arg His Ala Asn Glu Leu Val Glu Phe Ile Arg Glu Glu Thr				
115 120 125				
Gly Asn His Phe His Ile Glu Val Ala Ala Tyr Pro Glu Met His Pro				
130 135 140				
Gln Ala Arg Asn Tyr Glu Asp Asp Leu Ala Asn Phe Val Arg Lys Ala				
145 150 155 160				
Arg Ala Gly Ala Asp Ser Ala Ile Thr Gln Tyr Phe Phe Asn Ala Asp				
165 170 175				
Ser Tyr Phe Tyr Phe Val Asp Arg Leu Gln Ala Leu Gly Val Asp Ile				
180 185 190				
Pro Val Val Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Asn Tyr Ser Lys Leu Ala				
195 200 205				
Arg Phe Ser Asp Ala Cys Gly Ala Glu Ile Pro Arg Trp Ile Arg Lys				

210

215

220

Gln Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Asp Ser Gln Ser Ile Gln Arg Phe Gly
 225 230 235 240

Glu Gln Val Val Thr Glu Met Cys Glu Arg Leu Leu Gln Gly Gly Ala
 245 250 255

Pro Gly Leu His Phe Tyr Ser Met Asn Gln Ala Glu Pro Ser Leu Ala
 260 265 270

Ile Trp Asn Asn Leu Lys Leu Pro Arg
 275 280

<210> 21

<211> 1812

<212> DNA

<213> Schizosaccharomyces pombe

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1809)

<223> RSO01645

<400> 21

atg aaa ata agt gac aaa tta ctt cac ccg gat tgg aag gaa aaa gtt	48
Met Lys Ile Ser Asp Lys Leu Leu His Pro Asp Trp Lys Glu Lys Val	
1 5 10 15	

act tac agt tat gaa ttt ttt cct cca aaa acg agc act ggt gtc caa	96
Thr Tyr Ser Tyr Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Ser Thr Gly Val Gln	
20 25 30	

aat ctt tac aat cgt ata gat cgc atg aag act tgg ggt cgt ccc atg	144
Asn Leu Tyr Asn Arg Ile Asp Arg Met Lys Thr Trp Gly Arg Pro Met	
35 40 45	

ttt gtc gat gtg act tgg ggt gct ggt act tct tca gaa ctg act	192
Phe Val Asp Val Thr Trp Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ser Glu Leu Thr	
50 55 60	

cct gga atc gtt aat gta att caa aca gat ttt gaa gtg gat act tgc	240
Pro Gly Ile Val Asn Val Ile Gln Thr Asp Phe Glu Val Asp Thr Cys	
65 70 75 80	

atg cat ttg act tgt acg aac atg tcc aca gaa atg att gac gca gct	288
Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Ser Thr Glu Met Ile Asp Ala Ala	
85 90 95	

ttg aaa cgg gct cat gaa aca ggg tgt cgt aac ata ttg gcc ctt aga	336
Leu Lys Arg Ala His Glu Thr Gly Cys Arg Asn Ile Leu Ala Leu Arg	
100 105 110	

ggg gat cct gtt aaa gat aca gac tgg act gaa ggc gaa agt gga ttc	384
Gly Asp Pro Val Lys Asp Thr Asp Trp Thr Glu Gly Glu Ser Gly Phe	
115 120 125	

cgg tat gct tca gac tta gtt aga tat att cgc aca cat tat aat gat	432
Arg Tyr Ala Ser Asp Leu Val Arg Tyr Ile Arg Thr His Tyr Asn Asp	
130 135 140	

gaa ttc tgt att ggt gta gct ggc tat cca gaa gga tat tca cca gat Glu Phe Cys Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Tyr Ser Pro Asp 145 150 155 160	480
gat gac att gat gaa agc ata aag cat ctg aaa tta aaa gtc gat gaa Asp Asp Ile Asp Glu Ser Ile Lys His Leu Lys Leu Lys Val Asp Glu 165 170 175	528
ggg gct gat ttt atc gtt act caa atg ttt tat gat gta gac aat ttt Gly Ala Asp Phe Ile Val Thr Gln Met Phe Tyr Asp Val Asp Asn Phe 180 185 190	576
atc gca tgg gtc gat aaa gtg cgt gca gca gga ata aat atc cct ata Ile Ala Trp Val Asp Lys Val Arg Ala Ala Gly Ile Asn Ile Pro Ile 195 200 205	624
ttt ccg ggc att atg cct att cag gca tgg gat tcc ttt att cgg aga Phe Pro Gly Ile Met Pro Ile Gln Ala Trp Asp Ser Phe Ile Arg Arg 210 215 220	672
gcg aaa tgg agc ggt gtt aaa att ccc cag cat ttt atg gat act cta Ala Lys Trp Ser Gly Val Lys Ile Pro Gln His Phe Met Asp Thr Leu 225 230 235 240	720
gtc cca gtt aaa gac gat gat gaa gga gtc cgt gag cgt ggt gtt gag Val Pro Val Lys Asp Asp Asp Glu Gly Val Arg Glu Arg Gly Val Glu 245 250 255	768
ctc ata gtc gaa atg tgc cgt aag ctt ata gct agt ggc att acg aga Leu Ile Val Glu Met Cys Arg Lys Leu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Arg 260 265 270	816
ctt cat ttt tac act atg aat tta gaa aag gcc gtt aaa atg att att Leu His Phe Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala Val Lys Met Ile Ile 275 280 285	864
gaa cga tta ggt tta tta gat gaa aac ttg gct cct ata gtg gat act Glu Arg Leu Gly Leu Leu Asp Glu Asn Leu Ala Pro Ile Val Asp Thr 290 295 300	912
aat aac gtc gag tta acc aat gct tcc agt caa gat cgt cgg ata aat Asn Asn Val Glu Leu Thr Asn Ala Ser Ser Gln Asp Arg Arg Ile Asn 305 310 315 320	960
gaa ggt gta cgg ccc att ttc tgg cgc act cgt aat gaa agt tat gtc Glu Gly Val Arg Pro Ile Phe Trp Arg Thr Arg Asn Glu Ser Tyr Val 325 330 335	1008
tcc cgt act gat cag tgg gac gaa tta ccg cat ggt cgt tgg ggt gac Ser Arg Thr Asp Gln Trp Asp Glu Leu Pro His Gly Arg Trp Gly Asp 340 345 350	1056
tct cgt agc cct gct ttt ggc gaa ttt gat gct att aga tat ggt ctt Ser Arg Ser Pro Ala Phe Gly Glu Phe Asp Ala Ile Arg Tyr Gly Leu 355 360 365	1104
cgt atg tct ccc aag gag atc aca aca tcg tgg ggg tct cct aaa tct Arg Met Ser Pro Lys Glu Ile Thr Thr Ser Trp Gly Ser Pro Lys Ser 370 375 380	1152

tac tcg gaa atc ggc gat ttg ttt gcc agg tac tgt gaa aaa aag att Tyr Ser Glu Ile Gly Asp Leu Phe Ala Arg Tyr Cys Glu Lys Lys Ile 385 390 395 400	1200
agc tcc ctc cct tgg agt gat ctt ccc ata tcc gat gaa gcc gac ttg Ser Ser Leu Pro Trp Ser Asp Leu Pro Ile Ser Asp Glu Ala Asp Leu 405 410 415	1248
att cgg gat caa ctt cta agt atg aat aga aac gct ttc ctt act ata Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ser Met Asn Arg Asn Ala Phe Leu Thr Ile 420 425 430	1296
aat tct caa cct gct ctt aac ggc gaa aag agt tca cat cct gtt ttt Asn Ser Gln Pro Ala Leu Asn Gly Glu Lys Ser Ser His Pro Val Phe 435 440 445	1344
gga tgg gga cca cct aat ggt tat gtt ttc caa aaa cca tac gtt gag Gly Trp Gly Pro Pro Asn Gly Tyr Val Phe Gln Lys Pro Tyr Val Glu 450 455 460	1392
ttt ttc gtt cac ccc tca ctc ttg aat gaa ctc aaa gaa acc gtt aaa Phe Phe Val His Pro Ser Leu Leu Asn Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys 465 470 475 480	1440
aag ctt aat tca gtt tcc tac ttt gtt aca aac aag aat gga gac ttg Lys Leu Asn Ser Val Ser Tyr Phe Val Thr Asn Lys Asn Gly Asp Leu 485 490 495	1488
gat acc aac tca caa tat gag att cca aat gcg gtt aca tgg ggt gtt Asp Thr Asn Ser Gln Tyr Glu Ile Pro Asn Ala Val Thr Trp Gly Val 500 505 510	1536
ttc cct aat cgt gag att atc caa cct act att gtc gag tca acc tct Phe Pro Asn Arg Glu Ile Ile Gln Pro Thr Ile Val Glu Ser Thr Ser 515 520 525	1584
ttt ctt gct tgg aaa gat gaa gcc tat tca ttg ggc atg gaa tgg gct Phe Leu Ala Trp Lys Asp Glu Ala Tyr Ser Leu Gly Met Glu Trp Ala 530 535 540	1632
aat gca tat agc cct gat tca att tct cgt aaa ctt ttg gtt tct atg Asn Ala Tyr Ser Pro Asp Ser Ile Ser Arg Lys Leu Leu Val Ser Met 545 550 555 560	1680
atg aag gaa tgg ttc ctt tgt gtc ata gtt gat aac gat ttt caa aat Met Lys Glu Trp Phe Leu Cys Val Ile Val Asp Asn Asp Phe Gln Asn 565 570 575	1728
ggg caa tct ttg ttt gat gtt ttt aac aaa atg aga tct tta aaa gac Gly Gln Ser Leu Phe Asp Val Phe Asn Lys Met Arg Ser Leu Lys Asp 580 585 590	1776
atc cat cct gag cta tat tat gca aat gca tca taa Ile His Pro Glu Leu Tyr Tyr Ala Asn Ala Ser 595 600	1812

<210> 22
<211> 603
<212> PRT
<213> Schizosaccharomyces pombe

<400> 22
Met Lys Ile Ser Asp Lys Leu Leu His Pro Asp Trp Lys Glu Lys Val
1 5 10 15
Thr Tyr Ser Tyr Glu Phe Phe Pro Pro Lys Thr Ser Thr Gly Val Gln
20 25 30
Asn Leu Tyr Asn Arg Ile Asp Arg Met Lys Thr Trp Gly Arg Pro Met
35 40 45
Phe Val Asp Val Thr Trp Gly Ala Gly Gly Thr Ser Ser Glu Leu Thr
50 55 60
Pro Gly Ile Val Asn Val Ile Gln Thr Asp Phe Glu Val Asp Thr Cys
65 70 75 80
Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Ser Thr Glu Met Ile Asp Ala Ala
85 90 95
Leu Lys Arg Ala His Glu Thr Gly Cys Arg Asn Ile Leu Ala Leu Arg
100 105 110
Gly Asp Pro Val Lys Asp Thr Asp Trp Thr Glu Gly Glu Ser Gly Phe
115 120 125
Arg Tyr Ala Ser Asp Leu Val Arg Tyr Ile Arg Thr His Tyr Asn Asp
130 135 140
Glu Phe Cys Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Tyr Ser Pro Asp
145 150 155 160
Asp Asp Ile Asp Glu Ser Ile Lys His Leu Lys Leu Lys Val Asp Glu
165 170 175
Gly Ala Asp Phe Ile Val Thr Gln Met Phe Tyr Asp Val Asp Asn Phe
180 185 190
Ile Ala Trp Val Asp Lys Val Arg Ala Ala Gly Ile Asn Ile Pro Ile
195 200 205
Phe Pro Gly Ile Met Pro Ile Gln Ala Trp Asp Ser Phe Ile Arg Arg
210 215 220
Ala Lys Trp Ser Gly Val Lys Ile Pro Gln His Phe Met Asp Thr Leu
225 230 235 240
Val Pro Val Lys Asp Asp Asp Glu Gly Val Arg Glu Arg Gly Val Glu
245 250 255
Leu Ile Val Glu Met Cys Arg Lys Leu Ile Ala Ser Gly Ile Thr Arg
260 265 270
Leu His Phe Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala Val Lys Met Ile Ile
275 280 285
Glu Arg Leu Gly Leu Leu Asp Glu Asn Leu Ala Pro Ile Val Asp Thr
290 295 300
Asn Asn Val Glu Leu Thr Asn Ala Ser Ser Gln Asp Arg Arg Ile Asn
305 310 315 320

Glu Gly Val Arg Pro Ile Phe Trp Arg Thr Arg Asn Glu Ser Tyr Val
325 330 335

Ser Arg Thr Asp Gln Trp Asp Glu Leu Pro His Gly Arg Trp Gly Asp
340 345 350

Ser Arg Ser Pro Ala Phe Gly Glu Phe Asp Ala Ile Arg Tyr Gly Leu
355 360 365

Arg Met Ser Pro Lys Glu Ile Thr Thr Ser Trp Gly Ser Pro Lys Ser
370 375 380

Tyr Ser Glu Ile Gly Asp Leu Phe Ala Arg Tyr Cys Glu Lys Lys Ile
385 390 395 400

Ser Ser Leu Pro Trp Ser Asp Leu Pro Ile Ser Asp Glu Ala Asp Leu
405 410 415

Ile Arg Asp Gln Leu Leu Ser Met Asn Arg Asn Ala Phe Leu Thr Ile
420 425 430

Asn Ser Gln Pro Ala Leu Asn Gly Glu Lys Ser Ser His Pro Val Phe
435 440 445

Gly Trp Gly Pro Pro Asn Gly Tyr Val Phe Gln Lys Pro Tyr Val Glu
450 455 460

Phe Phe Val His Pro Ser Leu Leu Asn Glu Leu Lys Glu Thr Val Lys
465 470 475 480

Lys Leu Asn Ser Val Ser Tyr Phe Val Thr Asn Lys Asn Gly Asp Leu
485 490 495

Asp Thr Asn Ser Gln Tyr Glu Ile Pro Asn Ala Val Thr Trp Gly Val
500 505 510

Phe Pro Asn Arg Glu Ile Ile Gln Pro Thr Ile Val Glu Ser Thr Ser
515 520 525

Phe Leu Ala Trp Lys Asp Glu Ala Tyr Ser Leu Gly Met Glu Trp Ala
530 535 540

Asn Ala Tyr Ser Pro Asp Ser Ile Ser Arg Lys Leu Leu Val Ser Met
545 550 555 560

Met Lys Glu Trp Phe Leu Cys Val Ile Val Asp Asn Asp Phe Gln Asn
565 570 575

Gly Gln Ser Leu Phe Asp Val Phe Asn Lys Met Arg Ser Leu Lys Asp
580 585 590

Ile His Pro Glu Leu Tyr Tyr Ala Asn Ala Ser
595 600

<210> 23
<211> 1800
<212> DNA
<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(1797)
<223> RSC08323

<400> 23					48
atg aag atc aca gaa aaa tta gag caa cat aga cag acc tct ggc aag					
Met Lys Ile Thr Glu Lys Leu Glu Gln His Arg Gln Thr Ser Gly Lys					
1	5	10	15		
ccc act tac tca ttc gag tac ttc gtc ccg aag act aca caa ggt gta					96
Pro Thr Tyr Ser Phe Glu Tyr Phe Val Pro Lys Thr Thr Gln Gly Val					
20	25	30			
cag aac ctg tat gac cgg atg gac cgg atg tac gag gct tct ttg ccc					144
Gln Asn Leu Tyr Asp Arg Met Asp Arg Met Tyr Glu Ala Ser Leu Pro					
35	40	45			
caa ttt att gac atc acc tgg aat gca ggc ggt gga cgg ttg tca cat					192
Gln Phe Ile Asp Ile Thr Trp Asn Ala Gly Gly Arg Leu Ser His					
50	55	60			
ctg tcc acg gac ttg gtt gcg aca gcg cag tct gtg ctt ggt ttg gaa					240
Leu Ser Thr Asp Leu Val Ala Thr Ala Gln Ser Val Leu Gly Leu Glu					
65	70	75	80		
acg tgc atg cac ctt acc tgc acc aat atg ccc att tcg atg att gac					288
Thr Cys Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Pro Ile Ser Met Ile Asp					
85	90	95			
gac gct tta gaa aac gct tat cac tcc ggt tgc cag aac atc cta gcg					336
Asp Ala Leu Glu Asn Ala Tyr His Ser Gly Cys Gln Asn Ile Leu Ala					
100	105	110			
ctg aga gga gat cct cct agg gac gca gaa aac tgg act ccc gtt gaa					384
Leu Arg Gly Asp Pro Pro Arg Asp Ala Glu Asn Trp Thr Pro Val Glu					
115	120	125			
ggt ggc ttc cag tat gcc aag gac ttg att aag tat atc aag tcc aag					432
Gly Gly Phe Gln Tyr Ala Lys Asp Leu Ile Lys Tyr Ile Lys Ser Lys					
130	135	140			
tac ggt gac cat ttc gct atc ggc gtt gcc ggc tac ccg gag tgc cat					480
Tyr Gly Asp His Phe Ala Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Cys His					
145	150	155	160		
ccg gag ttg cct aac aaa gac gtg aag ctt gat ctc gag tat ttg agc					528
Pro Glu Leu Pro Asn Lys Asp Val Lys Leu Asp Leu Glu Tyr Leu Ser					
165	170	175			
aga aga tcg acc ggc ggc gac ttc atc atc act cag atg ttt tac gat					576
Arg Arg Ser Thr Gly Gly Asp Phe Ile Ile Thr Gln Met Phe Tyr Asp					
180	185	190			
gtt gat aat tta ctc aac tgg tgt tcc caa gtt aga gct gcg ggc atg					624
Val Asp Asn Leu Leu Asn Trp Cys Ser Gln Val Arg Ala Ala Gly Met					
195	200	205			
gac gtg ccc att att ccc ggg atc atg ccg atc act acc tac gcg gcc					672
Asp Val Pro Ile Ile Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Tyr Ala Ala					

210

215

220

ttc ttg aga agg atc caa tgg ggc caa atc tcc atc cct caa cat ttc 720
 Phe Leu Arg Arg Ile Gln Trp Gly Gln Ile Ser Ile Pro Gln His Phe
 225 230 235 240

tcg tcc cga ttg gat cct atc aag gac gat gag ttg gtc cgt gat 768
 Ser Ser Arg Leu Asp Pro Ile Lys Asp Asp Asp Glu Leu Val Arg Asp
 245 250 255

atc gga act aac ttg atc gtg gaa atg tgt caa aaa ttg ctc gac agt 816
 Ile Gly Thr Asn Leu Ile Val Glu Met Cys Gln Lys Leu Leu Asp Ser
 260 265 270

ggt tac gtt tct cac ttg cac atc tac acc atg aac ttg gaa aaa gcg 864
 Gly Tyr Val Ser His Leu His Ile Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala
 275 280 285

cct ctc atg att ctg gaa aga ttg aac att cta cct acg gaa tca gag 912
 Pro Leu Met Ile Leu Glu Arg Leu Asn Ile Leu Pro Thr Glu Ser Glu
 290 295 300

ttc aat gca cat cca ttg gcc gtg ttg cca tgg aga aaa tct ttg aat 960
 Phe Asn Ala His Pro Leu Ala Val Leu Pro Trp Arg Lys Ser Leu Asn
 305 310 315 320

cca aag cgt aaa aac gag gaa gtc aga cct atc ttc tgg aag aga aga 1008
 Pro Lys Arg Lys Asn Glu Glu Val Arg Pro Ile Phe Trp Lys Arg Arg
 325 330 335

cct tac tcc tat gtc gca aga acc tct caa tgg gcc gtg gac gaa ttc 1056
 Pro Tyr Ser Tyr Val Ala Arg Thr Ser Gln Trp Ala Val Asp Glu Phe
 340 345 350

ccc aac ggt aga ttc ggt gat tcg tct tct cct gcg ttc ggt gac ttg 1104
 Pro Asn Gly Arg Phe Gly Asp Ser Ser Ser Pro Ala Phe Gly Asp Leu
 355 360 365

gat ctg tgt ggt tca gac ttg atc agg caa tca gcg aac aaa tgt ctc 1152
 Asp Leu Cys Gly Ser Asp Leu Ile Arg Gln Ser Ala Asn Lys Cys Leu
 370 375 380

gaa tta tgg tcc acc cct act tcc atc aac gac gtc gcc ttc ttg gtc 1200
 Glu Leu Trp Ser Thr Pro Thr Ser Ile Asn Asp Val Ala Phe Leu Val
 385 390 395 400

atc aac tac ttg aat gga aac ttg aag tgt tta cct tgg agt gat atc 1248
 Ile Asn Tyr Leu Asn Gly Asn Leu Lys Cys Leu Pro Trp Ser Asp Ile
 405 410 415

ccc atc aat gat gaa ata aat cca atc aaa gca cac ttg att gag ctg 1296
 Pro Ile Asn Asp Glu Ile Asn Pro Ile Lys Ala His Leu Ile Glu Leu
 420 425 430

aac cag cat tct atc atc act ata aac tct caa cct caa gtc aac ggc 1344
 Asn Gln His Ser Ile Ile Thr Ile Asn Ser Gln Pro Gln Val Asn Gly
 435 440 445

att agg tcc aat gac aaa att cat ggt tgg gga ccc aag gat ggt tac 1392
 Ile Arg Ser Asn Asp Lys Ile His Gly Trp Gly Pro Lys Asp Gly Tyr
 450 455 460

gtt tac cag caa tat ttg gaa ttt atg ttg ccc aag act aag ttg 1440
 Val Tyr Gln Lys Gln Tyr Leu Glu Phe Met Leu Pro Lys Thr Lys Leu
 465 470 475 480

ccc aag ttg att gac acc ttg aaa aac aat gag ttc ttg acc tac ttc 1488
 Pro Lys Leu Ile Asp Thr Leu Lys Asn Asn Glu Phe Leu Thr Tyr Phe
 485 490 495

gcc atc gac tct caa ggt gac ctg cta agt aat cat cca gac aac tcc 1536
 Ala Ile Asp Ser Gln Gly Asp Leu Leu Ser Asn His Pro Asp Asn Ser
 500 505 510

aag tcc aac gct gtg act tgg ggt att ttc ccc ggc aga gaa att ctt 1584
 Lys Ser Asn Ala Val Thr Trp Gly Ile Phe Pro Gly Arg Glu Ile Leu
 515 520 525

caa cct acc att gtc gag aaa att tcg ttc tta gcg tgg aag gag gag 1632
 Gln Pro Thr Ile Val Glu Lys Ile Ser Phe Leu Ala Trp Lys Glu Glu
 530 535 540

ttc tat cat atc ttg aat gaa tgg aaa cta aac atg aat aaa tac gat 1680
 Phe Tyr His Ile Leu Asn Glu Trp Lys Leu Asn Met Asn Lys Tyr Asp
 545 550 555 560

aaa ccg cat agt gcc caa ttc att cag tcc ttg att gac gat tac tgc 1728
 Lys Pro His Ser Ala Gln Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Asp Tyr Cys
 565 570 575

ttg gtc aat att gtt gac aat gac tac att tct cca gat gat caa atc 1776
 Leu Val Asn Ile Val Asp Asn Asp Tyr Ile Ser Pro Asp Asp Gln Ile
 580 585 590

cat tcc atc cta cta agc cta taa 1800
 His Ser Ile Leu Leu Ser Leu
 595

<210> 24
 <211> 599
 <212> PRT
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 24
 Met Lys Ile Thr Glu Lys Leu Glu Gln His Arg Gln Thr Ser Gly Lys
 1 5 10 15

Pro Thr Tyr Ser Phe Glu Tyr Phe Val Pro Lys Thr Thr Gln Gly Val
 20 25 30

Gln Asn Leu Tyr Asp Arg Met Asp Arg Met Tyr Glu Ala Ser Leu Pro
 35 40 45

Gln Phe Ile Asp Ile Thr Trp Asn Ala Gly Gly Arg Leu Ser His
 50 55 60

Leu Ser Thr Asp Leu Val Ala Thr Ala Gln Ser Val Leu Gly Leu Glu
 65 70 75 80

Thr Cys Met His Leu Thr Cys Thr Asn Met Pro Ile Ser Met Ile Asp
 85 90 95

Asp Ala Leu Glu Asn Ala Tyr His Ser Gly Cys Gln Asn Ile Leu Ala
100 105 110

Leu Arg Gly Asp Pro Pro Arg Asp Ala Glu Asn Trp Thr Pro Val Glu
115 120 125

Gly Gly Phe Gln Tyr Ala Lys Asp Leu Ile Lys Tyr Ile Lys Ser Lys
130 135 140

Tyr Gly Asp His Phe Ala Ile Gly Val Ala Gly Tyr Pro Glu Cys His
145 150 155 160

Pro Glu Leu Pro Asn Lys Asp Val Lys Leu Asp Leu Glu Tyr Leu Ser
165 170 175

Arg Arg Ser Thr Gly Gly Asp Phe Ile Ile Thr Gln Met Phe Tyr Asp
180 185 190

Val Asp Asn Leu Leu Asn Trp Cys Ser Gln Val Arg Ala Ala Gly Met
195 200 205

Asp Val Pro Ile Ile Pro Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Tyr Ala Ala
210 215 220

Phe Leu Arg Arg Ile Gln Trp Gly Gln Ile Ser Ile Pro Gln His Phe
225 230 235 240

Ser Ser Arg Leu Asp Pro Ile Lys Asp Asp Asp Glu Leu Val Arg Asp
245 250 255

Ile Gly Thr Asn Leu Ile Val Glu Met Cys Gln Lys Leu Leu Asp Ser
260 265 270

Gly Tyr Val Ser His Leu His Ile Tyr Thr Met Asn Leu Glu Lys Ala
275 280 285

Pro Leu Met Ile Leu Glu Arg Leu Asn Ile Leu Pro Thr Glu Ser Glu
290 295 300

Phe Asn Ala His Pro Leu Ala Val Leu Pro Trp Arg Lys Ser Leu Asn
305 310 315 320

Pro Lys Arg Lys Asn Glu Glu Val Arg Pro Ile Phe Trp Lys Arg Arg
325 330 335

Pro Tyr Ser Tyr Val Ala Arg Thr Ser Gln Trp Ala Val Asp Glu Phe
340 345 350

Pro Asn Gly Arg Phe Gly Asp Ser Ser Ser Pro Ala Phe Gly Asp Leu
355 360 365

Asp Leu Cys Gly Ser Asp Leu Ile Arg Gln Ser Ala Asn Lys Cys Leu
370 375 380

Glu Leu Trp Ser Thr Pro Thr Ser Ile Asn Asp Val Ala Phe Leu Val
385 390 395 400

Ile Asn Tyr Leu Asn Gly Asn Leu Lys Cys Leu Pro Trp Ser Asp Ile
405 410 415

35

Pro Ile Asn Asp Glu Ile Asn Pro Ile Lys Ala His Leu Ile Glu Leu
 420 425 430
 Asn Gln His Ser Ile Ile Thr Ile Asn Ser Gln Pro Gln Val Asn Gly
 435 440 445
 Ile Arg Ser Asn Asp Lys Ile His Gly Trp Gly Pro Lys Asp Gly Tyr
 450 455 460
 Val Tyr Gln Lys Gln Tyr Leu Glu Phe Met Leu Pro Lys Thr Lys Leu
 465 470 475 480
 Pro Lys Leu Ile Asp Thr Leu Lys Asn Asn Glu Phe Leu Thr Tyr Phe
 485 490 495
 Ala Ile Asp Ser Gln Gly Asp Leu Leu Ser Asn His Pro Asp Asn Ser
 500 505 510
 Lys Ser Asn Ala Val Thr Trp Gly Ile Phe Pro Gly Arg Glu Ile Leu
 515 520 525
 Gln Pro Thr Ile Val Glu Lys Ile Ser Phe Leu Ala Trp Lys Glu Glu
 530 535 540
 Phe Tyr His Ile Leu Asn Glu Trp Lys Leu Asn Met Asn Lys Tyr Asp
 545 550 555 560
 Lys Pro His Ser Ala Gln Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Asp Tyr Cys
 565 570 575
 Leu Val Asn Ile Val Asp Asn Asp Tyr Ile Ser Pro Asp Asp Gln Ile
 580 585 590
 His Ser Ile Leu Leu Ser Leu
 595

<210> 25
<211> 897
<212> DNA
<213> *Erwinia carotovora*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(894)
<223> RE000089

<400> 25 atg agc ttt ttt cac gca aac cag cg^g gaa gc^g ctg aat caa agt ctg 48
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
1 5 10 15

gcg gaa ttg cag gga cga att aat gtg tca ttt gaa ttt ttc ccg cca 96
 Ala Glu Leu Gln Gly Arg Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
 20 25 30

cgt acc agc gat atg gaa gaa acc ctg tgg agc tct atc gat cga ctg 144
 Arg Thr Ser Asp Met Glu Glu Thr Leu Trp Ser Ser Ile Asp Arg Leu
 25 40 45

agg acc ctg aaq ccc aag ttt gtt tcc gtg act tac ggg gcg aat tct 192

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
 50 55 60

ggc gag cgt gac cgt act cac agc att atc aaa acg att aaa gag cgt 240
 Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Thr Ile Lys Glu Arg
 65 70 75 80

acc ggt ctg gaa gcg gca cct cac ctg acc tgc atc gat gct tca cgc 288
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg
 85 90 95

gaa cag ctg cgt gaa atc gct cag gat tac tgg gag agt ggt atc cgc 336
 Glu Gln Leu Arg Glu Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Glu Ser Gly Ile Arg
 100 105 110

cat att gtc gcg ctg cgc ggc gac ttg cct caa gaa ggc ggc aaa ccg 384
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Gln Glu Gly Gly Lys Pro
 115 120 125

gac atg tac gcg gcg gat ctg gtt tcc ctg ctg aaa gag gtc ggt gat 432
 Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ser Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp
 130 135 140

tcc gat att tcc gtt gcc gcc tat cct gaa gta cac cct gaa gcg aaa 480
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
 145 150 155 160

agc gcg cag gct gac ctg att aac ctg aaa cac aag att gat gcc ggc 528
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys His Lys Ile Asp Ala Gly
 165 170 175

gcg aat cgc gct atc aca cag ttc ttt ttc gac gta gaa agc tat ttg 576
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
 180 185 190

cgg ttc cgt gac cgc tgc gtg gca acg ggc atc gat gta gaa att gtg 624
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala Thr Gly Ile Asp Val Glu Ile Val
 195 200 205

ccg ggc att ctg cca gta tcg aac ttc aaa cag ttg cag aaa ttt gcc 672
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Phe Ala
 210 215 220

acg atg acc aac gtc cgt gtg ccg aac tgg atg acg acc atg ttt gac 720
 Thr Met Thr Asn Val Arg Val Pro Asn Trp Met Thr Thr Met Phe Asp
 225 230 235 240

ggc ctg gat aac gat cca gaa acc cgc aaa atg gtg ggg gcg tct atc 768
 Gly Leu Asp Asn Asp Pro Glu Thr Arg Lys Met Val Gly Ala Ser Ile
 245 250 255

gcc atg gat atg gtg aaa att ctc agc cgc gaa ggc gta aaa gat ttc 816
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
 260 265 270

cat ttc tat acg ctg aac cgc gcg gag ctg agc tat gcg att tgc cat 864
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Leu Ser Tyr Ala Ile Cys His
 275 280 285

acg ctg ggc gtc cgc cct gat gta gca cgc tga 897
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Asp Val Ala Arg

290

295

<210> 26
<211> 298
<212> PRT
<213> Erwinia carotovora

<400> 26
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
1 5 10 15
Ala Glu Leu Gln Gly Arg Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
20 25 30
Arg Thr Ser Asp Met Glu Glu Thr Leu Trp Ser Ser Ile Asp Arg Leu
35 40 45
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
50 55 60
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Thr Ile Lys Glu Arg
65 70 75 80
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg
85 90 95
Glu Gln Leu Arg Glu Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Glu Ser Gly Ile Arg
100 105 110
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Gln Glu Gly Gly Lys Pro
115 120 125
Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ser Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp
130 135 140
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
145 150 155 160
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys His Lys Ile Asp Ala Gly
165 170 175
Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
180 185 190
Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala Thr Gly Ile Asp Val Glu Ile Val
195 200 205
Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Phe Ala
210 215 220
Thr Met Thr Asn Val Arg Val Pro Asn Trp Met Thr Thr Met Phe Asp
225 230 235 240
Gly Leu Asp Asn Asp Pro Glu Thr Arg Lys Met Val Gly Ala Ser Ile
245 250 255
Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
260 265 270
His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Leu Ser Tyr Ala Ile Cys His

275

280

285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Asp Val Ala Arg
 290 295

<210> 27
 <211> 888
 <212> DNA
 <213> Klebsiella pneumoniae

<220>

<221> CDS
 <222> (1)..(885)
 <223> RKP07488

<400> 27

atg agc ttt ttt cac gcc aat cag cg^g gaa gcc ctg aat cag agc ctg 48
 Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
 1 5 10 15

g^cg gaa gtc cag ggc cag att aat gtg tct ttt gaa ttc ttt ccg ccg 96
 Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
 20 25 30

cgc acc agt gaa atg gag c^aa acc ctg tgg aaa tcc atc gat cgc ctg 144
 Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Lys Ser Ile Asp Arg Leu
 35 40 45

agc agt ctg aaa ccg aag ttt gtt tcg gta acc tat ggc g^cg aac tct 192
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
 50 55 60

g^gc gag cgc gat cgc acc cac agc atc atc aaa ggc att aaa gag cga 240
 Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg
 65 70 75 80

acc ggt ctg gaa gca g^cg ccg cac ctg acc tgt atc gat gcc agc cgc 288
 Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg
 85 90 95

gat gag ttg cgc act atc gct cag gat tac tgg aac aac ggt atc cgc 336
 Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg
 100 105 110

cat atc gtc gcc ctg cgc ggc gac ctg ccg ccg ggc agc ggt aaa ccg 384
 His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

gat atg tac gcc g^cc gat ctg gtg acg ttg ctg aaa gag gta ggc gat 432
 Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp
 130 135 140

ttt gat atc tct gtc gcc g^cg tat ccg gaa gtg cat ccg gag g^cg aaa 480
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
 145 150 155 160

agc g^cg cag g^cg gat tta ctg aac ctg aag cgc aaa gta gaa gca g^gg
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Glu Ala Gly
 165 170 175

gcc aac cgc gcg atc acc cag ttc ttc gat gtg gaa agc tac ctg 576
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
 180 185 190

cgt ttt cgc gat cgc tgc gtc tcg gca ggc atc gac gtg gaa atc att 624
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile
 195 200 205

ccc ggt atc ctg ccg gtc tcc aac ttt aaa cag gcg aaa aag ttt gcg 672
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala
 210 215 220

gat atg acc aac gtc cgt atc ccg gtg tgg atg tca aaa atg ttc gaa 720
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Val Trp Met Ser Lys Met Phe Glu
 225 230 235 240

ggg ctg gat aac gac gcc gaa acc cgt caa ctg gtg ggg gcg aat atc 768
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Gln Leu Val Gly Ala Asn Ile
 245 250 255

gcc atg gac atg gtg aag atc tta agc cgg gaa ggg gtc aag gat ttc 816
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
 260 265 270

cac ttc tac acc ctg aac cgc gcc gag atg agc tac gcc atc tgc cat 864
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His
 275 280 285

acg ctg ggc gta cgc ccg gcc tga 888
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Ala
 290 295

<210> 28
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> Klebsiella pneumoniae

<400> 28
 Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
 1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Pro Pro
 20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Lys Ser Ile Asp Arg Leu
 35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
 50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Ser Arg
 85 90 95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg
 100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro

115

120

125

Asp Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Gly Asp
130 135 140

Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
 145 150 155 160

Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Glu Ala Gly
165 170 175

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
180 185 186 187 188 189

Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile
195 200 205

Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala
210 215 220

Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Val Trp Met Ser Lys Met Phe Glu
225 230 235 240

Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Gln Leu Val Gly Ala Asn Ile
245 250 255

Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
260 265 270

His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His
275 280 285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Ala
290 295

<210> 29
<211> 891
<212> DNA
<213> *Salmonella typhi*

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (888)
<223> RTY02485

<400> 29
atg agc ttt ttt cac gcc aac cag cg^g gaa gcc ctg aat cag agc ctg 48
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
1 5 10 15

```

gcg gaa gta cag ggt cag att aac gtt tcg ttt gaa ttt ttc ccg ccg   96
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
          20           25           30

```

```

cgc acc agt gaa atg gag caa acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctg 144
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu
          35           40           45

```

agc agc ctg aaa ccg aag ttt gtt tcg gta acg tat ggc gcc aac tcc 192
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser

50	55	60	
ggg gaa cgt gac cgc act cat agt gtt att aaa ggc att aaa gag cgt Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg	65	70	240
act ggg ctt gag gcc gcg ccg cac ctt acc tgt att gac gcc acg cgc Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg	85	90	288
gat gaa ctg cgc acc atc gcc cgc gac tac tgg aat aac ggt atc cgc Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg	100	105	336
cac att gtt gct ttg cgc ggc gat ttg ccg ccg ggc agc ggt aag ccg His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro	115	120	384
gag atg tac gcc gcc gat ctg gtt ggt ttg ctc aaa gag gtg gtc gat Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Val Asp	130	135	432
ttc gat att tca gta gcg gcc tat ccg gag gta cat ccg gaa gcg aaa Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys	145	150	480
155	160		
agc gcg cag gcc gat ctg ctt aat ctg aag cgt aaa gtg gat gct ggc Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly	165	170	528
175			
gct aac cgc gcg ata acc caa ttt ttc ttc gat gtg gaa agc tat ctg Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu	180	185	576
190			
cgt ttt cgc gac cgc tgt gtt tcc gcc ggt atc gac gta gaa att att Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile	195	200	624
205			
ccc ggc att tta ccg gtg tct aac ttt aaa cag gcg aaa aaa ttt gcc Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala	210	215	672
220			
gat atg acc aat gtc cgc att ccg tcc tgg atg tcg ctg atg ttt gag Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu	225	230	720
235	240		
ggg ctg gat gat gac gca gaa acc cgc aag ctg gtg ggc gct aac att Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile	245	250	768
255			
gcg atg gac atg gtg aaa att tta agc cgc gaa gga gtg aag gat ttc Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe	260	265	816
270			
cac ttc tac acg ttg aat cgt gcg gaa atg agt tat gcc att tgc cac His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His	275	280	864
285			
acg ctg ggc gta aga ccg ggt tta taa Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu	290	295	891

<210> 30
<211> 296
<212> PRT
<213> *Salmonella typhi*

<400> 30
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
1 5 10 15
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
20 25 30
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu
35 40 45
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
50 55 60
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg
65 70 75 80
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg
85 90 95
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg
100 105 110
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro
115 120 125
Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Val Asp
130 135 140
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
145 150 155 160
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly
165 170 175
Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
180 185 190
Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile
195 200 205
Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala
210 215 220
Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu
225 230 235 240
Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile
245 250 255
Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
260 265 270
His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His
275 280 285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu
290 295

<210> 31
<211> 891
<212> DNA
<213> Salmonella typhimurium

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(888)
<223> RSY00593

<400> 31 48
atg agc ttt ttt cac gcc aac cag cgg gaa gcc ctg aat cag agc ctg
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
1 5 10 15

gct gaa gta cag ggt cag att aac gtt tcg ttt gaa ttt ttc ccg ccg 96
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
20 25 30

cgc acc agt gaa atg gag caa acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctg 144
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu
35 40 45

agc agt ctg aaa ccg aag ttt gtt tcg gta acg tat ggc gcc aac tcc 192
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
50 55 60

ggg gaa cgc gac cgc acc cat agc gtt att aaa ggc atc aaa gag cgt 240
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg
65 70 75 80

act ggg ctt gag gcc ccg cac ctt acc tgt att gac gcc acg cgc 288
Thr Gly Leu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg
85 90 95

gat gaa ctg cgc acc atc gcc cgc gac tac tgg aat aac ggt atc cgc 336
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg
100 105 110

cac att gtc gct ttg cgc ggc gat ttg ccg ccg ggc agc ggt aag ccg 384
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro
115 120 125

gag atg tac gcc gcc gat ctg gtt ggt ttg ctc aaa gag gtg gcc gat 432
Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp
130 135 140

tcc gat att tca gta gcg gcc tat ccg gag gta cat ccg gaa gcg aaa 480
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
145 150 155 160

agc gcg cag gcc gat ctg ctt aat ctg aag cgt aaa gtg gat gct ggc 528
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly
165 170 175

gct aac cgc gcg ata acc caa ttt ttc ttc gat gtg gaa agc tac ctg 576

Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
 180 185 190

cgt ttt cgc gac cgc tgt gtt tct gcc ggt atc gac gta gaa att att 624
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile
 195 200 205

ccc ggc att tta ccg gtg tct aac ttt aaa cag gca aaa aaa ttt gcc 672
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala
 210 215 220

gat atg acc aat gtc cgc att ccg tcc tgg atg tca ctg atg ttt gag 720
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu
 225 230 235 240

ggg ctg gat aat gac gca gaa acc cgc aag ctg gtg ggc gct aac att 768
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile
 245 250 255

gcg atg gac atg gtg aaa att tta agc cgt gaa gga gtg aag gat ttc 816
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
 260 265 270

cac ttc tac acg ttg aat cgt gcg gaa atg agt tat gcc att tgc cac 864
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His
 275 280 285

acg ctg ggc gta aga ccg ggt tta taa 891
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu
 290 295

<210> 32
<211> 296
<212> PRT
<213> *Salmonella typhimurium*

<400> 32
Met Ser Phe Phe His Ala Asn Gln Arg Glu Ala Leu Asn Gln Ser Leu
 1 5 10 15

Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
 20 25 30

Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu
 35 40 45

Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
 50 55 60

Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Val Ile Lys Gly Ile Lys Glu Arg
 65 70 75 80

Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg
 85 90 95

Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg
 100 105 110

His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Glu Met Tyr Ala Ala Asp Leu Val Gly Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp
 130 135 140
 Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
 145 150 155 160
 Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly
 165 170 175
 Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
 180 185 190
 Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile
 195 200 205
 Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala
 210 215 220
 Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ser Trp Met Ser Leu Met Phe Glu
 225 230 235 240
 Gly Leu Asp Asn Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile
 245 250 255
 Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
 260 265 270
 His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His
 275 280 285
 Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu
 290 295

<210> 33
 <211> 891
 <212> DNA
 <213> Escherichia coli

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(888)
 <223> REC03839

<400> 33
 atg agc ttt ttt cac gcc agc cag cgg gat gcc ctg aat cag agc ctg 48
 Met Ser Phe Phe His Ala Ser Gln Arg Asp Ala Leu Asn Gln Ser Leu
 1 5 10 15
 gca gaa gtc cag ggg cag att aac gtt tcg ttc gag ttt ttc ccg ccg 96
 Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
 20 25 30
 cgt acc agt gaa atg gag cag acc ctg tgg aac tcc atc gat cgc ctt 144
 Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu
 35 40 45
 agc agc ctg aaa ccg aag ttt gta tcg gtg acc tat ggc gcg aac tcc 192
 Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser

50

55

60

ggc gag cgc gac cgt acg cac agc att att aaa ggc att aaa gat cgc	240
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Asp Arg	
65 70 75 80	
act ggt ctg gaa gcg gca ccg cat ctt act tgc att gat gcg acg ccc	288
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Pro	
85 90 95	
gac gag ctg cgc acc att gca cgc gac tac tgg aat aac ggt att cgt	336
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg	
100 105 110	
cat atc gtg gcg ctg cgt ggc gat ctg ccg gga agt ggt aag cca	384
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro	
115 120 125	
gaa atg tat gct tct gac ctg gtg acg ctg tta aaa gaa gtg gca gat	432
Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp	
130 135 140	
ttc gat atc tcc gtg gcg gcg tat ccg gaa gtt cac ccg gaa gca aaa	480
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys	
145 150 155 160	
agc gct cag gcg gat ttg ctt aat ctg aaa cgc aaa gtg gat gcc gga	528
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly	
165 170 175	
gcc aac cgc gcg att act cag ttc ttc gat gtc gaa agc tac ctg	576
Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu	
180 185 190	
cgt ttt cgt gac cgc tgt gta tcg gcg ggc att gat gtg gaa att att	624
Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile	
195 200 205	
ccg gga att ttg ccg gta tct aac ttt aaa cag gcg aag aaa ttt gcc	672
Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala	
210 215 220	
gat atg acc aac gtg cgt att ccg gcg tgg atg gcg caa atg ttc gac	720
Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ala Trp Met Ala Gln Met Phe Asp	
225 230 235 240	
ggt ctg gat gat gat gcc gaa acc cgc aaa ctg gtt ggc gcg aat att	768
Gly Leu Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile	
245 250 255	
gcc atg gat atg gtg aag att tta agc cgt gaa gga gtg aaa gat ttc	816
Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe	
260 265 270	
cac ttc tat acg ctt aac cgt gct gaa atg agt tac gcg att tgc cat	864
His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His	
275 280 285	
acg ctg ggg gtt cga cct ggt tta taa	891
Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu	
290 295	

<210> 34
<211> 296
<212> PRT
<213> Escherichia coli

<400> 34
Met Ser Phe Phe His Ala Ser Gln Arg Asp Ala Leu Asn Gln Ser Leu
1 5 10 15
Ala Glu Val Gln Gly Gln Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
20 25 30
Arg Thr Ser Glu Met Glu Gln Thr Leu Trp Asn Ser Ile Asp Arg Leu
35 40 45
Ser Ser Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser
50 55 60
Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser Ile Ile Lys Gly Ile Lys Asp Arg
65 70 75 80
Thr Gly Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Pro
85 90 95
Asp Glu Leu Arg Thr Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asn Asn Gly Ile Arg
100 105 110
His Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp Leu Pro Pro Gly Ser Gly Lys Pro
115 120 125
Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val Thr Leu Leu Lys Glu Val Ala Asp
130 135 140
Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys
145 150 155 160
Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly
165 170 175
Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu
180 185 190
Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ser Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Ile
195 200 205
Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn Phe Lys Gln Ala Lys Lys Phe Ala
210 215 220
Asp Met Thr Asn Val Arg Ile Pro Ala Trp Met Ala Gln Met Phe Asp
225 230 235 240
Gly Leu Asp Asp Asp Ala Glu Thr Arg Lys Leu Val Gly Ala Asn Ile
245 250 255
Ala Met Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe
260 265 270
His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala Glu Met Ser Tyr Ala Ile Cys His
275 280 285

Thr Leu Gly Val Arg Pro Gly Leu
290 295

<210> 35
<211> 915
<212> DNA
<213> *Vibrio cholerae*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(912)
<223> RVC06433

<400> 35
gtg aca ctc ggt cac agg gag tac aag atg gga tac aca cac gct agc 48
Val Thr Leu Gly His Arg Glu Tyr Lys Met Gly Tyr Thr His Ala Ser
1 5 10 15

cat atc gat gca ttg aac caa aac att gcg gag ctt tcc gac atc aat 96
His Ile Asp Ala Leu Asn Gln Asn Ile Ala Glu Leu Ser Asp Ile Asn
20 25 30

gtt tcg ttt gag ttt ttt cca ccc agc tca cca caa atg gaa gaa acg 144
Val Ser Phe Glu Phe Pro Pro Ser Ser Pro Gln Met Glu Glu Thr
35 40 45

ctt tgg gga tcg gta cac cgt ctg aaa aca ctc caa ccg aaa ttt gtt 192
Leu Trp Gly Ser Val His Arg Leu Lys Thr Leu Gln Pro Lys Phe Val
50 55 60

tcg gtc act tat ggt gca aac tct ggt gag cgt gac cgt act cac tcg 240
Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser
65 70 75 80

atc att aaa gcg atc aaa gat caa acc ggt tta att gcc gcg cca cac 288
Ile Ile Lys Ala Ile Lys Asp Gln Thr Gly Leu Ile Ala Ala Pro His
85 90 95

ctg act tgt atc gat gcc act cgt gat gaa ctg atc cag atc gcc gat 336
Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg Asp Glu Leu Ile Gln Ile Ala Asp
100 105 110

gac tac tgg cat aac ggc atc cag aat att gtg gcg ctg cgt ggg gat 384
Asp Tyr Trp His Asn Gly Ile Gln Asn Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp
115 120 125

atc ccg gct ggc ggt ggt aag cca gag atg tac gcc tcc gat cta gtg 432
Ile Pro Ala Gly Gly Lys Pro Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val
130 135 140

acg ctg ctc aaa tca cgc cac gat ttt gat att tcc gtg gcc gcc ttc 480
Thr Leu Leu Lys Ser Arg His Asp Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Phe
145 150 155 160

cct gaa gtg cac cct gaa gcc aaa agc gcg caa gcg gac ctg ctc aat 528
Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn
165 170 175

tta aaa cgt aaa gtc gat gca ggt gcg aat cgt gcc atc acg cag ttt 576

Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe			
180	185	190	
ttc ttt gat gta gaa agc tac ctg cgt ttt cgc gat cgc tgt gtg gcc			624
Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala			
195	200	205	
gct ggg att gac gta gaa atc gtg cct ggc att ctg ccg gtt tct aac			672
Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn			
210	215	220	
ttt aaa caa gcg tcg cgc ttc gct gcg caa aac aac gtc aaa gtt ccg			720
Phe Lys Gln Ala Ser Arg Phe Ala Ala Gln Asn Asn Val Lys Val Pro			
225	230	235	240
aat tgg atg gtg aag cag ttt gaa gga tta gaa gac gat cca gtg act			768
Asn Trp Met Val Lys Gln Phe Glu Gly Leu Glu Asp Asp Pro Val Thr			
245	250	255	
cgc cag ttg gta ggt gca agc caa gcc att gat atg gtg cgc gtg ctg			816
Arg Gln Leu Val Gly Ala Ser Gln Ala Ile Asp Met Val Arg Val Leu			
260	265	270	
tgc cgt gaa ggg gtg aag gat ttc cac ttc tac acc cta aat cgt gcc			864
Cys Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala			
275	280	285	
gaa atg act tac gcg tta tgc cac acc tta ggc gtt cgc cca caa gct			912
Glu Met Thr Tyr Ala Leu Cys His Thr Leu Gly Val Arg Pro Gln Ala			
290	295	300	
taa			915

<210> 36
<211> 304
<212> PRT
<213> Vibrio cholerae

<400> 36			
Val Thr Leu Gly His Arg Glu Tyr Lys Met Gly Tyr Thr His Ala Ser			
1	5	10	15
His Ile Asp Ala Leu Asn Gln Asn Ile Ala Glu Leu Ser Asp Ile Asn			
20	25	30	
Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Ser Ser Pro Gln Met Glu Glu Thr			
35	40	45	
Leu Trp Gly Ser Val His Arg Leu Lys Thr Leu Gln Pro Lys Phe Val			
50	55	60	
Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu Arg Asp Arg Thr His Ser			
65	70	75	80
Ile Ile Lys Ala Ile Lys Asp Gln Thr Gly Leu Ile Ala Ala Pro His			
85	90	95	
Leu Thr Cys Ile Asp Ala Thr Arg Asp Glu Leu Ile Gln Ile Ala Asp			
100	105	110	

Asp Tyr Trp His Asn Gly Ile Gln Asn Ile Val Ala Leu Arg Gly Asp
 115 120 125
 Ile Pro Ala Gly Gly Lys Pro Glu Met Tyr Ala Ser Asp Leu Val
 130 135 140
 Thr Leu Leu Lys Ser Arg His Asp Phe Asp Ile Ser Val Ala Ala Phe
 145 150 155 160
 Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala Gln Ala Asp Leu Leu Asn
 165 170 175
 Leu Lys Arg Lys Val Asp Ala Gly Ala Asn Arg Ala Ile Thr Gln Phe
 180 185 190
 Phe Phe Asp Val Glu Ser Tyr Leu Arg Phe Arg Asp Arg Cys Val Ala
 195 200 205
 Ala Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly Ile Leu Pro Val Ser Asn
 210 215 220
 Phe Lys Gln Ala Ser Arg Phe Ala Ala Gln Asn Asn Val Lys Val Pro
 225 230 235 240
 Asn Trp Met Val Lys Gln Phe Glu Gly Leu Glu Asp Asp Pro Val Thr
 245 250 255
 Arg Gln Leu Val Gly Ala Ser Gln Ala Ile Asp Met Val Arg Val Leu
 260 265 270
 Cys Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Ala
 275 280 285
 Glu Met Thr Tyr Ala Leu Cys His Thr Leu Gly Val Arg Pro Gln Ala
 290 295 300

<210> 37
 <211> 879
 <212> DNA
 <213> Haemophilus influenzae

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(876)
 <223> RHI06620

<400> 37
 atg agc tac gcg aaa gaa att gat aca tta aat caa cat att gca gat 48
 Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Thr Leu Asn Gln His Ile Ala Asp
 1 5 10 15
 ttt aat aaa aaa att aat gtc tcc ttt gaa ttt ttt cca cct aaa aac 96
 Phe Asn Lys Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn
 20 25 30
 gaa aaa atg gaa acc ctt cta tgg gat tca att cat cgt tta aaa gta 144
 Glu Lys Met Glu Thr Leu Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Lys Val

35

40

45

tta aag cct aaa ttt gtg tca gtc act tac ggt gca aat tcg gga gaa 192
 Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu
 50 55 60

cgt gac cgc act cac ggc att gtg aaa gcc att aaa caa gaa act ggc 240
 Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Ala Ile Lys Gln Glu Thr Gly
 65 70 75 80

tta gaa gcc gca cca cat tta act gga att gat gcc aca cct gaa gaa 288
 Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Pro Glu Glu
 85 90 95

tta aaa caa att gcg aga gat tat tgg gat agt ggt att cgc cgt att 336
 Leu Lys Gln Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile
 100 105 110

gtt gcg tta cgc ggt gac gaa cct aaa ggt tac gcg aaa aaa cca ttt 384
 Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Ala Lys Lys Pro Phe
 115 120 125

tat gcg tca gat ctt gtg gaa tta ctc cgt tct gtc gct gat ttt gat 432
 Tyr Ala Ser Asp Leu Val Glu Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp
 130 135 140

att tct gta gca gct tat ccc gaa gtt cat cca gaa gca aaa tcc gca 480
 Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala
 145 150 155 160

caa gca gac tta att aat tta aaa cgt aaa att gat gca ggt gca aac 528
 Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn
 165 170 175

cac gtc att aca caa ttt ttc ttt gat att gaa aac tac cta cgt ttt 576
 His Val Ile Thr Gln Phe Phe Asp Ile Glu Asn Tyr Leu Arg Phe
 180 185 190

cgt gat cgt tgt gca tca att ggt att gat act gaa atc gta ccc ggt 624
 Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Thr Glu Ile Val Pro Gly
 195 200 205

att tta cct gtt act aat ttt aaa caa ctc caa aaa atg gca tca ttc 672
 Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ser Phe
 210 215 220

act aat gtg aaa att cca gcg tgg tta gtt aaa gcc tat gat ggt ttg 720
 Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Leu Val Lys Ala Tyr Asp Gly Leu
 225 230 235 240

gat aat gat cca act aca cgt aat ctt gtg gca gca agt gtt gca atg 768
 Asp Asn Asp Pro Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Val Ala Met
 245 250 255

gat atg gta aaa att tta tct cgc gaa ggc gtg aat gac ttc cac ttt 816
 Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Asn Asp Phe His Phe
 260 265 270

tat aca tta aat cgt agt gaa tta act tat gct atc tgt cat atg tta 864
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Met Leu
 275 280 285

ggt gta aga cct taa 879
 Gly Val Arg Pro
 290

<210> 38
<211> 292
<212> PRT
<213> Haemophilus influenzae

<400> 38
Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Thr Leu Asn Gln His Ile Ala Asp
1 5 10 15

Phe Asn Lys Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn
20 25 30

Glu Lys Met Glu Thr Leu Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Lys Val
35 40 45

Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu
50 55 60

Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Ala Ile Lys Gln Glu Thr Gly
65 70 75 80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Pro Glu Glu
85 90 95

Leu Lys Gln Ile Ala Arg Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile
100 105 110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Ala Lys Lys Pro Phe
115 120 125

Tyr Ala Ser Asp Leu Val Glu Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp
130 135 140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala
145 150 155 160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn
165 170 175

His Val Ile Thr Gln Phe Phe Asp Ile Glu Asn Tyr Leu Arg Phe
180 185 190

Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Thr Glu Ile Val Pro Gly
195 200 205

Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ser Phe
210 215 220

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Leu Val Lys Ala Tyr Asp Gly Leu
225 230 235 240

Asp Asn Asp Pro Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Val Ala Met
245 250 255

Asp Met Val Lys Ile Leu Ser Arg Glu Gly Val Asn Asp Phe His Phe
 260 265 270

Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Met Leu
 275 280 285

Gly Val Arg Pro
 290

<210> 39
 <211> 945
 <212> DNA
 <213> Caulobacter crescentus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(942)
 <223> RC002274

<400> 39 48
 atg acc ctt ccg ccc acc cgc cgc gtg atc ggt ccc gtc gcc cga gcc
 Met Thr Leu Pro Pro Thr Arg Arg Val Ile Gly Pro Val Ala Arg Ala
 .1 5 10 15

ggc gag cgg acc ggc cgt ccg cgc gtg ttc gag ttc ttc ccg ccc 96
 Gly Glu Arg Thr Gly Arg Pro Arg Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
 20 25 30

aag act ccg cag atg gaa gag agc ctg tgg cag gcg atc aca cgc ctg 144
 Lys Thr Pro Gln Met Glu Glu Ser Leu Trp Gln Ala Ile Thr Arg Leu
 35 40 45

gcg ccg ctg gat ccg gcc ttc gtc tcg gtg acc tat ggc gcg ggc ggc 192
 Ala Pro Leu Asp Pro Ala Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly
 50 55 60

tcc acc cgc gag cgc acc cac cgc acc gtc aag cgg atc ctg gac gag 240
 Ser Thr Arg Glu Arg Thr His Arg Thr Val Lys Arg Ile Leu Asp Glu
 65 70 75 80

acc agc ctc aag ccc gcc gcg cac ctg acc tgc gtc ggc gcc agt cgc 288
 Thr Ser Leu Lys Pro Ala Ala His Leu Thr Cys Val Gly Ala Ser Arg
 85 90 95

gaa gag gtc gat gag gtc att cgc gag tac tgg gag acc ggg gtc cgt 336
 Glu Glu Val Asp Glu Val Ile Arg Glu Tyr Trp Glu Thr Gly Val Arg
 100 105 110

cac atc gtt tcg ctg cgg ggc gat ccg ccc ggc gag ggc ggc atc 384
 His Ile Val Ser Leu Arg Gly Asp Pro Pro Gly Glu Gly Gly Ile
 115 120 125

ggc ggg gtc tat gtg cgc cgc gac ggc tac gcc aac gcc aca gag 432
 Gly Gly Val Tyr Val Pro Arg Ala Asp Gly Tyr Ala Asn Ala Thr Glu
 130 135 140

ttg acc aag gcc gtg cgc cgc atc gcg ccg ttc gag gtg ctg gtc ggg 480
 Leu Thr Lys Ala Val Arg Ala Ile Ala Pro Phe Glu Val Leu Val Gly
 145 150 155 160

gtc tat ccc gag aag cat ccc gag agc ccc tcg ttg gag cac gac atc 528
 Val Tyr Pro Glu Lys His Pro Glu Ser Pro Ser Leu Glu His Asp Ile
 165 170 175

 gac gtc ttg aag cag aag gtc gac gcc ggc gcg acg ctg ggg atc agc 576
 Asp Val Leu Lys Gln Lys Val Asp Ala Gly Ala Thr Leu Gly Ile Ser
 180 185 190

 cag ttc ttc ttc gac ctc gac gcc ttc ctg cgc ttc gtc gac aag gtg 624
 Gln Phe Phe Asp Leu Asp Ala Phe Leu Arg Phe Val Asp Lys Val
 195 200 205

 cgc gcg gcg ggc atc acc att ccg atc gtg ccg ggg atc atg ccg gtg 672
 Arg Ala Ala Gly Ile Thr Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Val
 210 215 220

 acc aat ttc gcg ggc ttg aag aag atg gcc gcc tgc cag acg gcc 720
 Thr Asn Phe Ala Gly Leu Lys Lys Met Ala Ala Ala Cys Gln Thr Ala
 225 230 235 240

 atc ccg tcc tgg ctg ggg aac ctg ttc gac ggg ctg gag aac gac gcg 768
 Ile Pro Ser Trp Leu Gly Asn Leu Phe Asp Gly Leu Glu Asn Asp Ala
 245 250 255

 gag acc cgc cgc ctg atc gcc tgt tcg gtg gcc gcc gag atg tgc gcc 816
 Glu Thr Arg Arg Leu Ile Ala Cys Ser Val Ala Ala Glu Met Cys Ala
 260 265 270

 aag ctg cag gaa cag ggt ttc gag gac ttc cac ttc tac acc ctg aac 864
 Lys Leu Gln Glu Gln Gly Phe Glu Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn
 275 280 285

 cgg gcc gat ctc gtt tac gcc atc tgc cgt gtg ctg ggc gtg cgc gag 912
 Arg Ala Asp Leu Val Tyr Ala Ile Cys Arg Val Leu Gly Val Arg Glu
 290 295 300

 atc tcg ccc gcc gct tcg gag gtc gcc gca tga 945
 Ile Ser Pro Ala Ala Ser Glu Val Ala Ala
 305 310

 <210> 40
 <211> 314
 <212> PRT
 <213> Caulobacter crescentus

 <400> 40
 Met Thr Leu Pro Pro Thr Arg Arg Val Ile Gly Pro Val Ala Arg Ala
 1 5 10 15

 Gly Glu Arg Thr Gly Arg Pro Arg Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro
 20 25 30

 Lys Thr Pro Gln Met Glu Glu Ser Leu Trp Gln Ala Ile Thr Arg Leu
 35 40 45

 Ala Pro Leu Asp Pro Ala Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly
 50 55 60

 Ser Thr Arg Glu Arg Thr His Arg Thr Val Lys Arg Ile Leu Asp Glu
 65 70 75 80

Thr Ser Leu Lys Pro Ala Ala His Leu Thr Cys Val Gly Ala Ser Arg
 85 90 95

 Glu Glu Val Asp Glu Val Ile Arg Glu Tyr Trp Glu Thr Gly Val Arg
 100 105 110

 His Ile Val Ser Leu Arg Gly Asp Pro Pro Pro Gly Glu Gly Gly Ile
 115 120 125

 Gly Gly Val Tyr Val Pro Arg Ala Asp Gly Tyr Ala Asn Ala Thr Glu
 130 135 140

 Leu Thr Lys Ala Val Arg Ala Ile Ala Pro Phe Glu Val Leu Val Gly
 145 150 155 160

 Val Tyr Pro Glu Lys His Pro Glu Ser Pro Ser Leu Glu His Asp Ile
 165 170 175

 Asp Val Leu Lys Gln Lys Val Asp Ala Gly Ala Thr Leu Gly Ile Ser
 180 185 190

 Gln Phe Phe Phe Asp Leu Asp Ala Phe Leu Arg Phe Val Asp Lys Val
 195 200 205

 Arg Ala Ala Gly Ile Thr Ile Pro Ile Val Pro Gly Ile Met Pro Val
 210 215 220

 Thr Asn Phe Ala Gly Leu Lys Lys Met Ala Ala Ala Cys Gln Thr Ala
 225 230 235 240

 Ile Pro Ser Trp Leu Gly Asn Leu Phe Asp Gly Leu Glu Asn Asp Ala
 245 250 255

 Glu Thr Arg Arg Leu Ile Ala Cys Ser Val Ala Ala Glu Met Cys Ala
 260 265 270

 Lys Leu Gln Glu Gln Gly Phe Glu Asp Phe His Phe Tyr Thr Leu Asn
 275 280 285

 Arg Ala Asp Leu Val Tyr Ala Ile Cys Arg Val Leu Gly Val Arg Glu
 290 295 300

 Ile Ser Pro Ala Ala Ser Glu Val Ala Ala
 305 310

<210> 41
 <211> 885
 <212> DNA
 <213> *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(882)

 <223> RAB00260

<400> 41
 atg agt tac gca aaa gaa att gat aat cta aat caa cat tta gct gat 48
 Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Asn Leu Asn Gln His Leu Ala Asp

1	5	10	15	
tta aac ggc aaa att aat gtc tct ttt gaa ttt ttc ccg ccg aaa agt Leu Asn Gly Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Ser	20	25	30	96
gaa aaa atg gaa aat ctt ctg tgg gaa tcc atc cat cgc tta aaa gtg Glu Lys Met Glu Asn Leu Leu Trp Glu Ser Ile His Arg Leu Lys Val	35	40	45	144
cta aaa ccg aaa ttt gta tcc gtg act tac ggc gcc aat tcc ggc gag Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu	50	55	60	192
cgt gaa cgc act cac ggg gtg gtg aaa cgc att aag cag gaa acc ggt Arg Glu Arg Thr His Gly Val Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly	65	70	75	240
ctg gaa gct gcg ccg cat tta acc ggt att gac gct acc tcg gac gaa Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Ser Asp Glu	85	90	95	288
ttg cgt cgc att gcc aaa ggt tat tgg gat agc ggc att cgt cgc att Leu Arg Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile	100	105	110	336
gtg gca ctg cgc ggt gac gag ccg aaa ggc tac gag aaa aaa cca ttt Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe	115	120	125	384
tat gcc gcc gat tta gta gca tta tta cgt gac gta tca gat ttt gat Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ala Leu Leu Arg Asp Val Ser Asp Phe Asp	130	135	140	432
att tcc gtg gcg gca tac cct gag gtt cat ccg gaa gcc aaa tcg gcg Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala	145	150	155	480
caa gcg gat tta att aat tta aaa cgt aaa att gat gcc ggt gcc aat Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn	165	170	175	528
cat gtg atc aca caa ttc ttt ttc gat att gac agc tat ctg cgg ttc His Val Ile Thr Gln Phe Phe Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Arg Phe	180	185	190	576
cgc gat cgc tgc gcg tct atc ggt att gat gca gaa atc gtg ccg ggg Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Ala Glu Ile Val Pro Gly	195	200	205	624
att ctg ccg gtg acc aac ttc aaa caa tta caa aaa atg gca gca atc Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ala Ile	210	215	220	672
act aat gtg aaa att cca gct tgg atg agc aaa atg tat gaa ggc ttg Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Met Ser Lys Met Tyr Glu Gly Leu	225	230	235	720
gat gat gac caa acc acc cgc aat ctg gtg gcg gcg agc atc gcc atg Asp Asp Asp Gln Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Met	245	250	255	768

gac atg gtg cgt gta ctg tcc cgc gaa ggg gta aaa gac ttt cat ttc 816
 Asp Met Val Arg Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe
 260 265 270

tac acc ctg aat cgc agt gaa ctc acc tat gct att tgc cac acg tta 864
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Thr Leu
 275 280 285

ggc att cgt ccg agt ttg taa 885
 Gly Ile Arg Pro Ser Leu
 290

<210> 42
<211> 294
<212> PRT
<213> *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

<400> 42
Met Ser Tyr Ala Lys Glu Ile Asp Asn Leu Asn Gln His Leu Ala Asp
1 5 10 15

Leu Asn Gly Lys Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Ser
20 25 30

Glu Lys Met Glu Asn Leu Leu Trp Glu Ser Ile His Arg Leu Lys Val
35 40 45

Leu Lys Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu
50 55 60

Arg Glu Arg Thr His Gly Val Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly
65 70 75 80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Thr Ser Asp Glu
85 90 95

Leu Arg Arg Ile Ala Lys Gly Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile
100 105 110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Lys Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe
115 120 125

Tyr Ala Ala Asp Leu Val Ala Leu Leu Arg Asp Val Ser Asp Phe Asp
130 135 140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala
145 150 155 160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn
165 170 175

His Val Ile Thr Gln Phe Phe Asp Ile Asp Ser Tyr Leu Arg Phe
180 185 190

Arg Asp Arg Cys Ala Ser Ile Gly Ile Asp Ala Glu Ile Val Pro Gly
195 200 205

Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gln Lys Met Ala Ala Ile
210 215 220

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ala Trp Met Ser Lys Met Tyr Glu Gly Leu
 225 230 235 240

Asp Asp Asp Gln Thr Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Met
 245 250 255

Asp Met Val Arg Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe
 260 265 270

Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Thr Leu
 275 280 285

Gly Ile Arg Pro Ser Leu
 290

<210> 43

<211> 867

<212> DNA

<213> Rhodobacter

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(864)

<223> RRC03981

<400> 43

atg acc acg ccg cat gtc agc ttt gaa ttc ttc ccg ccg cag acg ctc 48
 Met Thr Thr Pro His Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Gln Thr Leu
 1 5 10 15

gac gcc tcg ttc ccg ctg tgg gag acg gcg cag gtt ctg gcg ccg ctc 96
 Asp Ala Ser Phe Arg Leu Trp Glu Thr Ala Gln Val Leu Ala Pro Leu
 20 25 30

aag ccc ggc ttc tcg gtc acc tat ggc gcg ggc ggc acc acc cgc 144
 Lys Pro Gly Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Arg
 35 40 45

aag ctg acg cat gag gcc gtg gcg atc cac aag aat tac ggc ctg 192
 Lys Leu Thr His Glu Ala Val Ala Ile His Lys Asn Tyr Gly Leu
 50 55 60

aac gtc gcc gcg cat ctg acc tgc gtc gat gcg acc cgg gcc gaa acg 240
 Asn Val Ala Ala His Leu Thr Cys Val Asp Ala Thr Arg Ala Glu Thr
 65 70 75 80

caa gag atc atc gac gcc tat gcc gag gct ggc gtc acc gag att gtc 288
 Gln Glu Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Glu Ala Gly Val Thr Glu Ile Val
 85 90 95

gcg ctg cgc ggt gat ccg ccg aaa ggc gcc gcc cgc ttc acg ccg cat 336
 Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Lys Gly Ala Ala Arg Phe Thr Pro His
 100 105 110

ccg gac ggg ttt gcc tcc tcg gtg gac ctc atc gaa tgg ctg gcg ccg 384
 Pro Asp Gly Phe Ala Ser Ser Val Asp Leu Ile Glu Trp Leu Ala Arg
 115 120 125

gac ggc cgc ttc acg ctg cgc tgc ggc gcc tat ccg gaa ccg cat ccg 432

Asp Gly Arg Phe Thr Leu Arg Cys Gly Ala Tyr Pro Glu Pro His Pro
 130 135 140 480
 gaa gcc gcc gac acg ctg gcc gac gtg cgc tgg ctg aaa cgc aaa tgc
 Glu Ala Ala Asp Thr Leu Ala Asp Val Arg Trp Leu Lys Arg Lys Cys
 145 150 155 160
 gag gcg ggg gcg acc tcg gcg atc acg caa ttc ttc ttt gaa gcc gag
 Glu Ala Gly Ala Thr Ser Ala Ile Thr Gln Phe Phe Glu Ala Glu
 165 170 175 528
 acc ttc ttc cgc ttc cgc gac gcc tgc gtg aag gaa ggg atc acc gcc
 Thr Phe Phe Arg Phe Arg Asp Ala Cys Val Lys Glu Gly Ile Thr Ala
 180 185 190 576
 aag atc atc ccg ggc atc ctg ccg atc cag tcc tgg aaa ggc gcc aag
 Lys Ile Ile Pro Gly Ile Leu Pro Ile Gln Ser Trp Lys Gly Ala Lys
 195 200 205 624
 agc ttt gcg cag cgc tgc ggc acc tcg atc ccg acc tgg gtc gaa gag
 Ser Phe Ala Gln Arg Cys Gly Thr Ser Ile Pro Thr Trp Val Glu Glu
 210 215 220 672
 gcc ttt gac cat gcg atc cgc gac cgc gaa cag ctg ctg gcc acg
 Ala Phe Asp His Ala Ile Arg Asp Asp Arg Glu Gln Leu Leu Ala Thr
 225 230 235 240 720
 gcg ctg tgc acg gag ctc tgc gac aac ctg atc gcg ggc ggg gtc gag
 Ala Leu Cys Thr Glu Leu Cys Asp Asn Leu Ile Ala Gly Val Glu
 245 250 255 768
 gat ctg cat ttc tac acg ctg aac cgg ccg cag atg acc cgc gat gtc
 Asp Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Pro Gln Met Thr Arg Asp Val
 260 265 270 816
 tgc cat gcg ctg ggc gtc aac ccg ggt gtc gaa aac gtc gcc 864
 Cys His Ala Leu Gly Val Asn Pro Gly Val Val Leu Glu Asn Val Ala
 275 280 285
 tga 867

 <210> 44
 <211> 288
 <212> PRT
 <213> Rhodobacter

 <400> 44
 Met Thr Thr Pro His Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Gln Thr Leu
 1 5 10 15
 Asp Ala Ser Phe Arg Leu Trp Glu Thr Ala Gln Val Leu Ala Pro Leu
 20 25 30
 Lys Pro Gly Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Gly Gly Thr Thr Arg
 35 40 45
 Lys Leu Thr His Glu Ala Val Ala Ile His Lys Asn Tyr Gly Leu
 50 55 60
 Asn Val Ala Ala His Leu Thr Cys Val Asp Ala Thr Arg Ala Glu Thr

60

65

70

75

80

Gln Glu Ile Ile Asp Ala Tyr Ala Glu Ala Gly Val Thr Glu Ile Val
85 90 95

Ala Leu Arg Gly Asp Pro Pro Lys Gly Ala Ala Arg Phe Thr Pro His
100 105 110

Pro Asp Gly Phe Ala Ser Ser Val Asp Leu Ile Glu Trp Leu Ala Arg
115 120 125

Asp Gly Arg Phe Thr Leu Arg Cys Gly Ala Tyr Pro Glu Pro His Pro
130 135 140

Glu Ala Ala Asp Thr Leu Ala Asp Val Arg Trp Leu Lys Arg Lys Cys
 145 150 155 160

Glu Ala Gly Ala Thr Ser Ala Ile Thr Gln Phe Phe Phe Glu Ala Glu
 165 170 175

Thr Phe Phe Arg Phe Arg Asp Ala Cys Val Lys Glu Gly Ile Thr Ala
180 185 190

Lys Ile Ile Pro Gly Ile Leu Pro Ile Gln Ser Trp Lys Gly Ala Lys
 195 200 205

Ser Phe Ala Gln Arg Cys Gly Thr Ser Ile Pro Thr Trp Val Glu Glu
 210 215 220

Ala Phe Asp His Ala Ile Arg Asp Asp Arg Glu Gln Leu Leu Ala Thr
225 230 235 240

Ala Leu Cys Thr Glu Leu Cys Asp Asn Leu Ile Ala Gly Gly Val .Glu
245 250 255

Asp Leu His Phe Tyr Thr Leu Asn Arg Pro Gln Met Thr Arg Asp Val
260 265 270

Cys His Ala Leu Gly Val Asn Pro Gly Val Val Leu Glu Asn Val Ala
275 280 285

<210> 45

<211> 879

<212> DNA

<213> *Neisseria meningitidis* ser. A

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(876)

<223> RNM00812

<400> 45

atg aat tac gca aaa gaa atc aat gcg tta aat aac agc ctt tcc gat
 Met Asn Tyr Ala Lys Glu Ile Asn Ala Leu Asn Asn Ser Leu Ser Asp
 1 5 10 15 48

ttg aaa ggc gac atc aac gtt tcg ttt gaa ttt ttt cca ccg aaa aac 96

Leu Lys Gly Asp Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn
 20 25 30

gag caa atg gaa acg atg ctg tgg gat tcc atc cac cgt ctg caa acc 144
 Glu Gln Met Glu Thr Met Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Gln Thr
 35 40 45

ctg cat ccc aag ttc gta tcc gta acc tac ggc gca aac tcc ggc gaa 192
 Leu His Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu
 50 55 60

cgc gac cgc acg cac ggc atc gtc aaa cgc atc aaa cag gaa acc ggc 240
 Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly
 65 70 75 80

ttg gaa gca gca ccg cac ctg acc ggc atc gac gca tcc ccc gac gaa 288
 Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Ser Pro Asp Glu
 85 90 95

ttg cgc caa atc gcc aaa gac tat tgg gac agc ggc atc cgc cgc att 336
 Leu Arg Gln Ile Ala Lys Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile
 100 105 110

gtc gcc ctg cgt ggc gac gag ccg ccc ggt tat gag aaa aaa ccg ttt 384
 Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Pro Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe
 115 120 125

tac gcc gaa gac ttg gtt aag cta tta cgc tcc gtc gcc gac ttc gac 432
 Tyr Ala Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp
 130 135 140

atc tct gtg gcg gca tat ccc gaa gtg cat ccc gaa gcc aaa tcc gca 480
 Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala
 145 150 155 160

caa gcc gat ctg att aat ctg aag cgc aaa atc gat gcg ggt gca aac 528
 Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn
 165 170 175

cac gtc atc acc caa ttt ttc ttt gac gta gaa cgc tac ctg cgc ttc 576
 His Val Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Arg Tyr Leu Arg Phe
 180 185 190

cgc gac cgc tgc gtg atg ttg ggt atc gat gtg gaa atc gtc cct ggt 624
 Arg Asp Arg Cys Val Met Leu Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly
 195 200 205

att ttg cct gtt acc aac ttc aag cag ctc ggc aaa atg gcg caa gta 672
 Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gly Lys Met Ala Gln Val
 210 215 220

acc aac gtc aaa atc cca agc tgg ctg tcg caa atg tat gaa ggt ttg 720
 Thr Asn Val Lys Ile Pro Ser Trp Leu Ser Gln Met Tyr Glu Gly Leu
 225 230 235 240

gac gac gac caa ggc acg cgc aac ctc gtc gcc gac agt atc gtc atc 768
 Asp Asp Asp Gln Gly Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Ile
 245 250 255

gat atg gtc aaa gtc ctg tcc cgc gaa ggc gtg aaa gat ttc cac ttc 816
 Asp Met Val Lys Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe

260

265

270

tac acg ctc aac cgc agc gag ctg act tac gcc atc tgc cat att tta 864
 Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Ile Leu
 275 280 285

ggc gtg cgc cct taa
 Gly Val Arg Pro
 290

879

<210> 46
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> Neisseria meningitidis ser. A

<400> 46
 Met Asn Tyr Ala Lys Glu Ile Asn Ala Leu Asn Asn Ser Leu Ser Asp
 1 5 10 15

Leu Lys Gly Asp Ile Asn Val Ser Phe Glu Phe Phe Pro Pro Lys Asn
 20 25 30

Glu Gln Met Glu Thr Met Leu Trp Asp Ser Ile His Arg Leu Gln Thr
 35 40 45

Leu His Pro Lys Phe Val Ser Val Thr Tyr Gly Ala Asn Ser Gly Glu
 50 55 60

Arg Asp Arg Thr His Gly Ile Val Lys Arg Ile Lys Gln Glu Thr Gly
 65 70 75 80

Leu Glu Ala Ala Pro His Leu Thr Gly Ile Asp Ala Ser Pro Asp Glu
 85 90 95

Leu Arg Gln Ile Ala Lys Asp Tyr Trp Asp Ser Gly Ile Arg Arg Ile
 100 105 110

Val Ala Leu Arg Gly Asp Glu Pro Pro Gly Tyr Glu Lys Lys Pro Phe
 115 120 125

Tyr Ala Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Arg Ser Val Ala Asp Phe Asp
 130 135 140

Ile Ser Val Ala Ala Tyr Pro Glu Val His Pro Glu Ala Lys Ser Ala
 145 150 155 160

Gln Ala Asp Leu Ile Asn Leu Lys Arg Lys Ile Asp Ala Gly Ala Asn
 165 170 175

His Val Ile Thr Gln Phe Phe Asp Val Glu Arg Tyr Leu Arg Phe
 180 185 190

Arg Asp Arg Cys Val Met Leu Gly Ile Asp Val Glu Ile Val Pro Gly
 195 200 205

Ile Leu Pro Val Thr Asn Phe Lys Gln Leu Gly Lys Met Ala Gln Val
 210 215 220

Thr Asn Val Lys Ile Pro Ser Trp Leu Ser Gln Met Tyr Glu Gly Leu
 225 230 235 240

Asp Asp Asp Gln Gly Thr Arg Asn Leu Val Ala Ala Ser Ile Ala Ile
 245 250 255

Asp Met Val Lys Val Leu Ser Arg Glu Gly Val Lys Asp Phe His Phe
 260 265 270

Tyr Thr Leu Asn Arg Ser Glu Leu Thr Tyr Ala Ile Cys His Ile Leu
 275 280 285

Gly Val Arg Pro
 290

<210> 47

<211> 849

<212> DNA

<213> Campylobacter jejuni

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(846)

<223> RCJ02911

<400> 47
 atg tgt agt ttt tct ttt gaa gtt ttt cca cca aga aag gat gaa aat 48
 Met Cys Ser Phe Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Arg Lys Asp Glu Asn
 1 5 10 15

atc aaa aat ctt cat gct atc tta gat gat tta ggg caa tta agc cct 96
 Ile Lys Asn Leu His Ala Ile Leu Asp Asp Leu Gly Gln Leu Ser Pro
 20 25 30

aat ttt atc agc gta acc ttt gga gct gga ggc tct att aac tca caa 144
 Asn Phe Ile Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Ser Ile Asn Ser Gln
 35 40 45

aat act tta gaa gtt gca agc tta atc cag gaa gaa tat caa att cct 192
 Asn Thr Leu Glu Val Ala Ser Leu Ile Gln Glu Tyr Gln Ile Pro
 50 55 60

agc ata gta cat tta cct tgc atc cat tct agt aaa gaa aaa atc act 240
 Ser Ile Val His Leu Pro Cys Ile His Ser Ser Lys Glu Lys Ile Thr
 65 70 75 80

cag ata ctt caa aaa tgc aaa gaa aaa aat ctt aat caa att ctt gcc 288
 Gln Ile Leu Gln Lys Cys Lys Glu Lys Asn Leu Asn Gln Ile Leu Ala
 85 90 95

cta aga ggc gat ata tgt gaa aat tta aaa aaa agc aaa gat ttt tct 336
 Leu Arg Gly Asp Ile Cys Glu Asn Leu Lys Ser Lys Asp Phe Ser
 100 105 110

tat gct agt gat tta att tct ttt ata aaa aaa caa gaa tac ttt gaa 384
 Tyr Ala Ser Asp Leu Ile Ser Phe Ile Lys Lys Gln Glu Tyr Phe Glu
 115 120 125

att tat gcc gca tgc tat ccc gaa aaa cat aat gaa tct aaa aat ttc 432
 Ile Tyr Ala Ala Cys Tyr Pro Glu Lys His Asn Glu Ser Lys Asn Phe
 130 135 140

atc gag gat ata cac cat ctt aaa act aag gta aat gca gga aca gat Ile Glu Asp Ile His His Leu Lys Thr Lys Val Asn Ala Gly Thr Asp	480
145 150 155 160	
aag ctc att actcaa ctt ttt tac gat aat gaa gat ttt tat act ttt Lys Leu Ile Thr Gln Leu Phe Tyr Asp Asn Glu Asp Phe Tyr Thr Phe	528
165 170 175	
aaa caa aat tgt gct tta gca gat att gac ata cct att tac gca ggt Lys Gln Asn Cys Ala Leu Ala Asp Ile Asp Ile Pro Ile Tyr Ala Gly	576
180 185 190	
att atg cct att act aac aaa aga cag gtt tta aaa att tct caa ctt Ile Met Pro Ile Thr Asn Lys Arg Gln Val Leu Lys Ile Ser Gln Leu	624
195 200 205	
tgc gga gct aaa atc cct cct aaa ttt gtt aaa att tta gaa aaa tat Cys Gly Ala Lys Ile Pro Pro Lys Phe Val Lys Ile Leu Glu Lys Tyr	672
210 215 220	
gaa aat aat act ttg gct tta gaa gat gca ggt atc gcg tat gct tgc Glu Asn Asn Thr Leu Ala Leu Glu Asp Ala Gly Ile Ala Tyr Ala Cys	720
225 230 235 240	
gat caa att gtc gat tta atc aca agt ggt gta gat gga att cat ctt Asp Gln Ile Val Asp Leu Ile Thr Ser Gly Val Asp Gly Ile His Leu	768
245 250 255	
tat act atg aat aaa tcc aaa gcg gct att aaa att tat gaa gct gta Tyr Thr Met Asn Lys Ser Lys Ala Ala Ile Lys Ile Tyr Glu Ala Val	816
260 265 270	
aag cat ttg ctt aaa gaa gag ctt cat gct tag Lys His Leu Leu Lys Glu Glu Leu His Ala	849
275 280	

<210> 48
<211> 282
<212> PRT
<213> *Campylobacter jejuni*

<400> 48
Met Cys Ser Phe Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Arg Lys Asp Glu Asn
1 5 10 15

Ile Lys Asn Leu His Ala Ile Leu Asp Asp Leu Gly Gln Leu Ser Pro
20 25 30

Asn Phe Ile Ser Val Thr Phe Gly Ala Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gln
35 40 45

Asn Thr Leu Glu Val Ala Ser Leu Ile Gln Glu Glu Tyr Gln Ile Pro
50 55 60

Ser Ile Val His Leu Pro Cys Ile His Ser Ser Lys Glu Lys Ile Thr
 65 70 75 80

Gln Ile Leu Gln Lys Cys Lys Glu Lys Asn Leu Asn Gln Ile Leu Ala
85 90 95

Leu Arg Gly Asp Ile Cys Glu Asn Leu Lys Lys Ser Lys Asp Phe Ser
 100 105 110

Tyr Ala Ser Asp Leu Ile Ser Phe Ile Lys Lys Gln Glu Tyr Phe Glu
 115 120 125

Ile Tyr Ala Ala Cys Tyr Pro Glu Lys His Asn Glu Ser Lys Asn Phe
 130 135 140

Ile Glu Asp Ile His His Leu Lys Thr Lys Val Asn Ala Gly Thr Asp
 145 150 155 160

Lys Leu Ile Thr Gln Leu Phe Tyr Asp Asn Glu Asp Phe Tyr Thr Phe
 165 170 175

Lys Gln Asn Cys Ala Leu Ala Asp Ile Asp Ile Pro Ile Tyr Ala Gly
 180 185 190

Ile Met Pro Ile Thr Asn Lys Arg Gln Val Leu Lys Ile Ser Gln Leu
 195 200 205

Cys Gly Ala Lys Ile Pro Pro Lys Phe Val Lys Ile Leu Glu Lys Tyr
 210 215 220

Glu Asn Asn Thr Leu Ala Leu Glu Asp Ala Gly Ile Ala Tyr Ala Cys
 225 230 235 240

Asp Gln Ile Val Asp Leu Ile Thr Ser Gly Val Asp Gly Ile His Leu
 245 250 255

Tyr Thr Met Asn Lys Ser Lys Ala Ala Ile Lys Ile Tyr Glu Ala Val
 260 265 270

Lys His Leu Leu Lys Glu Glu Leu His Ala
 275 280

<210> 49

<211> 852

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(849)

<223> AAK05352

<400> 49

atg aca agt aat tcc aaa att ctt tct ttt gaa gtt ttt cca cct aca 48
 Met Thr Ser Asn Ser Lys Ile Leu Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Thr
 1 5 10 15

act caa att gga agt acc aac ttg gta aag acc ttg gat agc cta aga 96
 Thr Gln Ile Gly Ser Thr Asn Leu Val Lys Thr Leu Asp Ser Leu Arg
 20 25 30

act ctc tcg cca gat ttt atc agt gta act tgt agt aac aat aat tat 144
 Thr Leu Ser Pro Asp Phe Ile Ser Val Thr Cys Ser Asn Asn Asn Tyr
 35 40 45

gat aat att gga gat aca act ata aag ttt gct gat tat gta aac aat 192
 Asp Asn Ile Gly Asp Thr Thr Ile Lys Phe Ala Asp Tyr Val Asn Asn
 50 55 60

aca cta gat att cca gcg gtt gct cat tta cct gcc gct tat tta gat 240
 Thr Leu Asp Ile Pro Ala Val Ala His Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Asp
 65 70 75 80

aaa gct caa gtg atc gaa att ttg gaa cggtt aaaa gat aaa caa atc 288
 Lys Ala Gln Val Ile Glu Ile Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys Gln Ile
 85 90 95

aaa aaa att ctt gct tta aga ggt gat atc agc gat gaa ccg atg aaa 336
 Lys Lys Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Ile Ser Asp Glu Pro Met Lys
 100 105 110

gat gat ttt aaa ttt gca agt gat ttg gtt aaa ttt atc aaa gat tat 384
 Asp Asp Phe Phe Ala Ser Asp Leu Val Lys Phe Ile Lys Asp Tyr
 115 120 125

gat gat agt ttt gaa gtt tta ggt gct tgc tac ccc gat att cat ccc 432
 Asp Asp Ser Phe Glu Val Leu Gly Ala Cys Tyr Pro Asp Ile His Pro
 130 135 140

gaa tca gta aat cga gtg agt gat ttt cat tat ctg aaaa gaa aaa gta 480
 Glu Ser Val Asn Arg Val Ser Asp Phe His Tyr Leu Lys Glu Lys Val
 145 150 155 160

gat gct ggt tgt gac aga tta atc acg caa cta ttt ttt gat aat gat 528
 Asp Ala Gly Cys Asp Arg Leu Ile Thr Gln Leu Phe Phe Asp Asn Asp
 165 170 175

agt ttc tat gat ttt caa gaa cga tgc gca att gct gag ata aat act 576
 Ser Phe Tyr Asp Phe Gln Glu Arg Cys Ala Ile Ala Glu Ile Asn Thr
 180 185 190

ccg ata ttc gcc gga ata atg cca gta atc aat cga aat caa att ctt 624
 Pro Ile Phe Ala Gly Ile Met Pro Val Ile Asn Arg Asn Gln Ile Leu
 195 200 205

cgt cta tta aaaa aat tgt aat acg cca tta cca gca aaaa ttc att aga 672
 Arg Leu Leu Lys Asn Cys Asn Thr Pro Leu Pro Ala Lys Phe Ile Arg
 210 215 220

ata ctc gaa aaaa tat gaa cat aat ctt atc gct tta agg gat gct gga 720
 Ile Leu Glu Lys Tyr Glu His Asn Leu Ile Ala Leu Arg Asp Ala Gly
 225 230 235 240

att gct tac gcc atc gat caa atc gtt gat tta gta aca gag gat gtt 768
 Ile Ala Tyr Ala Ile Asp Gln Ile Val Asp Leu Val Thr Glu Asp Val
 245 250 255

gct gga att cac ctc tat acg atg aat aat gca aat acg gca cac tcc 816
 Ala Gly Ile His Leu Tyr Thr Met Asn Asn Ala Asn Thr Ala His Ser
 260 265 270

atc cat gct tca att tct tct tta ttt acc ttt tga 852
 Ile His Ala Ser Ile Ser Ser Leu Phe Thr Phe
 275 280

<210> 50
<211> 283
<212> PRT
<213> Lactococcus lactis

<400> 50
Met Thr Ser Asn Ser Lys Ile Leu Ser Phe Glu Val Phe Pro Pro Thr
1 5 10 15
Thr Gln Ile Gly Ser Thr Asn Leu Val Lys Thr Leu Asp Ser Leu Arg
20 25 30
Thr Leu Ser Pro Asp Phe Ile Ser Val Thr Cys Ser Asn Asn Asn Tyr
35 40 45
Asp Asn Ile Gly Asp Thr Thr Ile Lys Phe Ala Asp Tyr Val Asn Asn
50 55 60
Thr Leu Asp Ile Pro Ala Val Ala His Leu Pro Ala Ala Tyr Leu Asp
65 70 75 80
Lys Ala Gln Val Ile Glu Ile Leu Glu Arg Leu Lys Asp Lys Gln Ile
85 90 95
Lys Lys Ile Leu Ala Leu Arg Gly Asp Ile Ser Asp Glu Pro Met Lys
100 105 110
Asp Asp Phe Lys Phe Ala Ser Asp Leu Val Lys Phe Ile Lys Asp Tyr
115 120 125
Asp Asp Ser Phe Glu Val Leu Gly Ala Cys Tyr Pro Asp Ile His Pro
130 135 140
Glu Ser Val Asn Arg Val Ser Asp Phe His Tyr Leu Lys Glu Lys Val
145 150 155 160
Asp Ala Gly Cys Asp Arg Leu Ile Thr Gln Leu Phe Phe Asp Asn Asp
165 170 175
Ser Phe Tyr Asp Phe Gln Glu Arg Cys Ala Ile Ala Glu Ile Asn Thr
180 185 190
Pro Ile Phe Ala Gly Ile Met Pro Val Ile Asn Arg Asn Gln Ile Leu
195 200 205
Arg Leu Leu Lys Asn Cys Asn Thr Pro Leu Pro Ala Lys Phe Ile Arg
210 215 220
Ile Leu Glu Lys Tyr Glu His Asn Leu Ile Ala Leu Arg Asp Ala Gly
225 230 235 240
Ile Ala Tyr Ala Ile Asp Gln Ile Val Asp Leu Val Thr Glu Asp Val
245 250 255
Ala Gly Ile His Leu Tyr Thr Met Asn Asn Ala Asn Thr Ala His Ser
260 265 270
Ile His Ala Ser Ile Ser Ser Leu Phe Thr Phe
275 280

<210> 51
<211> 891
<212> DNA
<213> *Prochlorococcus maritima*

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(888)
<223> RCK01602

<400> 51
ttg aaa tca aaa ctt cag caa act tta gaa aag aat tca aaa gta att 48
Leu Lys Ser Lys Leu Gln Gln Thr Leu Glu Lys Asn Ser Lys Val Ile
1 5 10 15

aca gca gaa tta atg ccg cca aga gga gga gac ccc gta aga tct ctt 96
 Thr Ala Glu Leu Met Pro Pro Arg Gly Gly Asp Pro Val Arg Ser Leu
 20 25 30

aaa ata gca caa ctc ttg aga aat aag gtg cat gca gtt aat att aca 144
Lys Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asn Lys Val His Ala Val Asn Ile Thr
35 40 45

gac gga agt aga gca ata atg aga atg tgt agt tta gca atg tct aaa	192		
Asp Gly Ser Arg Ala Ile Met Arg Met Cys Ser Leu Ala Met Ser Lys			
50	55	60	

cta tta cta gac aat ggg ata gaa cct ata atg cag atc tca tgt aga	240
Leu Leu Leu Asp Asn Gly Ile Glu Pro Ile Met Gln Ile Ser Cys Arg	
65 70 75 80	

gat cgt aat aaa att gct tta caa tca gat att ctt gga gca aat gcc 288
Asp Arg Asn Lys Ile Ala Leu Gln Ser Asp Ile Leu Gly Ala Asn Ala
85 90 95

tta gga att aaa aat att tta tgc att aca gga gat tct gta aaa gcc 336
 Leu Gly Ile Lys Asn Ile Leu Cys Ile Thr Gly Asp Ser Val Lys Ala
 100 105 110

gga gat cag caa gaa aca aaa gcc gtt cat gaa ttt gag gca gta aga 384
 Gly Asp Gln Gln Glu Thr Lys Ala Val His Glu Phe Glu Ala Val Arg
 115 120 125

tta tta aaa caa att caa tca ttc aat caa gga att gat cct act ttt 432
 Leu Leu Lys Gln Ile Gln Ser Phe Asn Gln Gly Ile Asp Pro Thr Phe
 130 135 140

```

gaa caa ctt cca gac aaa agg act gaa att ttc tca ggt gcg gca gta 480
Glu Gln Leu Pro Asp Lys Arg Thr Glu Ile Phe Ser Gly Ala Ala Val
145           150           155           160

```

gat cca agt tgt cga aat caa aga agt tta aaa agt aga aca att aaa 528
 Asp Pro Ser Cys Arg Asn Gln Arg Ser Leu Lys Ser Arg Thr Ile Lys
 165 170 175

aaa aaa gag gcc ggt gca aat ttc tta caa act caa ata gtt atg gat 576
Lys Lys Glu Ala Gly Ala Asn Phe Leu Gln Thr Gln Ile Val Met Asp
180 185 190

aga aaa tgt tta gca gac ttt tgc aac gaa atc agt aat cca ctt gag 624

Arg Lys Cys Leu Ala Asp Phe Cys Asn Glu Ile Ser Asn Pro Leu Glu
 195 200 205
 ata cca gtt att gca gga gta ttt ctt tta aaa tca tat aaa aat gct 672
 Ile Pro Val Ile Ala Gly Val Phe Leu Leu Lys Ser Tyr Lys Asn Ala
 210 215 220
 ctt ttc ata aat aaa ttt gta cct gga gcg aat att cct gaa aat gtt 720
 Leu Phe Ile Asn Lys Phe Val Pro Gly Ala Asn Ile Pro Glu Asn Val
 225 230 235 240
 tta aat cgt ctc aaa gat gca aaa aat cca ctt caa gaa gga ata tta 768
 Leu Asn Arg Leu Lys Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gln Glu Gly Ile Leu
 245 250 255
 att gct tca gag caa gct caa gat ttt att aat att gca gat gga att 816
 Ile Ala Ser Glu Gln Ala Gln Asp Phe Ile Asn Ile Ala Asp Gly Ile
 260 265 270
 cat ctt atg gca gtc aaa tca gaa cat ctt atc cca gag ata ctt gaa 864
 His Leu Met Ala Val Lys Ser Glu His Leu Ile Pro Glu Ile Leu Glu
 275 280 285
 aaa gct ggt ctc aat ctg gaa tgt taa 891
 Lys Ala Gly Leu Asn Leu Glu Cys
 290 295

<210> 52
 <211> 296
 <212> PRT
 <213> Prochlorococcus maritima

<400> 52
 Leu Lys Ser Lys Leu Gln Gln Thr Leu Glu Lys Asn Ser Lys Val Ile
 1 5 10 15
 Thr Ala Glu Leu Met Pro Pro Arg Gly Gly Asp Pro Val Arg Ser Leu
 20 25 30
 Lys Ile Ala Gln Leu Leu Arg Asn Lys Val His Ala Val Asn Ile Thr
 35 40 45
 Asp Gly Ser Arg Ala Ile Met Arg Met Cys Ser Leu Ala Met Ser Lys
 50 55 60
 Leu Leu Leu Asp Asn Gly Ile Glu Pro Ile Met Gln Ile Ser Cys Arg
 65 70 75 80
 Asp Arg Asn Lys Ile Ala Leu Gln Ser Asp Ile Leu Gly Ala Asn Ala
 85 90 95
 Leu Gly Ile Lys Asn Ile Leu Cys Ile Thr Gly Asp Ser Val Lys Ala
 100 105 110
 Gly Asp Gln Gln Glu Thr Lys Ala Val His Glu Phe Glu Ala Val Arg
 115 120 125
 Leu Leu Lys Gln Ile Gln Ser Phe Asn Gln Gly Ile Asp Pro Thr Phe
 130 135 140

Glu Gln Leu Pro Asp Lys Arg Thr Glu Ile Phe Ser Gly Ala Ala Val
 145 150 155 160

Asp Pro Ser Cys Arg Asn Gln Arg Ser Leu Lys Ser Arg Thr Ile Lys
 165 170 175

Lys Lys Glu Ala Gly Ala Asn Phe Leu Gln Thr Gln Ile Val Met Asp
 180 185 190

Arg Lys Cys Leu Ala Asp Phe Cys Asn Glu Ile Ser Asn Pro Leu Glu
 195 200 205

Ile Pro Val Ile Ala Gly Val Phe Leu Leu Lys Ser Tyr Lys Asn Ala
 210 215 220

Leu Phe Ile Asn Lys Phe Val Pro Gly Ala Asn Ile Pro Glu Asn Val
 225 230 235 240

Leu Asn Arg Leu Lys Asp Ala Lys Asn Pro Leu Gln Glu Gly Ile Leu
 245 250 255

Ile Ala Ser Glu Gln Ala Gln Asp Phe Ile Asn Ile Ala Asp Gly Ile
 260 265 270

His Leu Met Ala Val Lys Ser Glu His Leu Ile Pro Glu Ile Leu Glu
 275 280 285

Lys Ala Gly Leu Asn Leu Glu Cys
 290 295

<210> 53

<211> 1848

<212> DNA

<213> *Bacillus stearothermophilus*

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(1845)

<223> RBE04103

<400> 53

gtg gga ttg ctg gat gag ttg aaa gag cgc att ctc atc gcc gac ggg 48
 Val Gly Leu Leu Asp Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Ile Ala Asp Gly
 1 5 10 15

gcg atg gga acg ctt tta tat tcg cac ggc att gac cgt tgt ttt gaa 96
 Ala Met Gly Thr Leu Leu Tyr Ser His Gly Ile Asp Arg Cys Phe Glu
 20 25 30

gaa ttg aat cta tcc aat cca gat gaa atc gtc cat att cat gaa gcg 144
 Glu Leu Asn Leu Ser Asn Pro Asp Glu Ile Val His Ile His Glu Ala
 35 40 45

tat atc gcc gcg ggc gcc gac gtc att cag acg aat aca tac ggc gcc 192
 Tyr Ile Ala Ala Gly Ala Asp Val Ile Gln Thr Asn Thr Tyr Gly Ala
 50 55 60

aac tat gtg aaa ctc gcc cgc tac ggc ctt gaa gat gag gtg ccg gcc 240
 Asn Tyr Val Lys Leu Ala Arg Tyr Gly Leu Glu Asp Glu Val Pro Ala

65	70	75	80	
atc aac cgc gcg gcg gtg cggt ctc gcc agg caa gcg gcg aac gga cgg Ile Asn Arg Ala Ala Val Arg Leu Ala Arg Gln Ala Ala Asn Gly Arg				288
85	90		95	
gca tac gtg ctc ggg acg atc ggg ggg ctg cgc acg tta aac aaa agc Ala Tyr Val Leu Gly Thr Ile Gly Leu Arg Thr Leu Asn Lys Ser				336
100	105		110	
gtc gtc acg ctc gaa gaa gtg aag cgg acg ttt cgc gag cag ctg ttt Val Val Thr Leu Glu Glu Val Lys Arg Thr Phe Arg Glu Gln Leu Phe				384
115	120		125	
gtc ctg ctc gct gaa ggg gtc gac ggc gtg ctg ctc gag acg tat tac Val Leu Leu Ala Glu Gly Val Asp Gly Val Leu Leu Glu Thr Tyr Tyr				432
130	135		140	
gat ttg gaa gag ttg gag acg gtg ctt gcc atc gcc cgc aaa gag acc Asp Leu Glu Glu Leu Glu Thr Val Leu Ala Ile Ala Arg Lys Glu Thr				480
145	150		155	
gac ttg ccg att atc gct cac gtc tcg ctc cat gaa gtc ggc gtc ttg Asp Leu Pro Ile Ile Ala His Val Ser Leu His Glu Val Gly Val Leu				528
165	170		175	
caa gat ggc acg ccg ctc gcg gac gcc ctt gcc cgc cta gag gcg ctc Gln Asp Gly Thr Pro Leu Ala Asp Ala Leu Ala Arg Leu Glu Ala Leu				576
180	185		190	
ggg gcc gat gtc gga ctg aac tgt cgt ctc ggt cca tat cat atg Gly Ala Asp Val Val Gly Leu Asn Cys Arg Leu Gly Pro Tyr His Met				624
195	200		205	
ctt cgg tcg ctc gag gaa gtg ccg ctg cca aat cga gcg ttt ttg tcg Leu Arg Ser Leu Glu Val Pro Leu Pro Asn Arg Ala Phe Leu Ser				672
210	215		220	
gcg tat ccg aac gcc agc ctt ccg gat tac cgc gat ggg cgg ctt gtc Ala Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Pro Asp Tyr Arg Asp Gly Arg Leu Val				720
225	230		235	
tat gag acg aac gct gaa tat ttc gag gaa acg gcc aaa gcg ttc cgc Tyr Glu Thr Asn Ala Glu Tyr Phe Glu Glu Thr Ala Lys Ala Phe Arg				768
245	250		255	
gac caa ggg gtg cgc ttg atc ggc ggg tgc tgc ggc acg acg ccg aaa Asp Gln Gly Val Arg Leu Ile Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr Pro Lys				816
260	265		270	
cat atc gaa gcg atg gca aaa gcg ctc tcc gac cga acg ccg gtg acg His Ile Glu Ala Met Ala Lys Ala Leu Ser Asp Arg Thr Pro Val Thr				864
275	280		285	
gaa aaa acg gtg aaa cgg cgc gcg gtg tct gta tca gtg caa gcg gag Glu Lys Thr Val Lys Arg Arg Ala Val Ser Val Ser Val Gln Ala Glu				912
290	295		300	
cgg ccc gcc cca tct ccc ctt ccc gag ctt gcc cgc acg cac cgc tcg Arg Pro Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Leu Ala Arg Thr His Arg Ser				960
305	310		315	

gtc att gtg gag ctg gat ccg ccg aaa aaa ttg ggg att gac aag ttt		1008	
Val Ile Val Glu Leu Asp Pro Pro Lys Lys Leu Gly Ile Asp Lys Phe			
325	330	335	
ctt gcc ggg gcg aaa gcg ctc cat gac gcc ggc atc gat gcg ctg acg		1056	
Leu Ala Gly Ala Lys Ala Leu His Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Thr			
340	345	350	
ttg gcc gac aac tcg ctc gcc acg ccg cgc atc agc aac gcc gct gtc		1104	
Leu Ala Asp Asn Ser Leu Ala Thr Pro Arg Ile Ser Asn Ala Ala Val			
355	360	365	
gcc acg atc atc aag gag caa ctc ggc atc cgc ccg ctc gtg cat att		1152	
Ala Thr Ile Ile Lys Glu Gln Leu Gly Ile Arg Pro Leu Val His Ile			
370	375	380	
aca tgc cgc gat cgc aat ttg atc ggc ttg cag tcg cat ttg atg ggc		1200	
Thr Cys Arg Asp Arg Asn Leu Ile Gly Leu Gln Ser His Leu Met Gly			
385	390	395	400
ttg cat acg ctc ggc atc acc gat gtg ctc gcc att acc ggc gac ccg		1248	
Leu His Thr Leu Gly Ile Thr Asp Val Leu Ala Ile Thr Gly Asp Pro			
405	410	415	
tcg aaa atc ggc gat ttt cca ggg gca acg tcc gtg tac gac tta tca		1296	
Ser Lys Ile Gly Asp Phe Pro Gly Ala Thr Ser Val Tyr Asp Leu Ser			
420	425	430	
tcg ttc gat ttg atc cgc ttg atc cgc cag ttt aac gaa ggg ctg tcg		1344	
Ser Phe Asp Leu Ile Arg Leu Ile Arg Gln Phe Asn Glu Gly Leu Ser			
435	440	445	
tac tcg ggc aaa ccg ctt ggg caa aaa acg aac ttc tcg atc ggc gct		1392	
Tyr Ser Gly Lys Pro Leu Gly Gln Lys Thr Asn Phe Ser Ile Gly Ala			
450	455	460	
gcg ttc aac ccg aac gtc cgc cat ttg gac aaa gcg gtc gag cgg atg		1440	
Ala Phe Asn Pro Asn Val Arg His Leu Asp Lys Ala Val Glu Arg Met			
465	470	475	480
gag aaa aaa atc caa tgc ggc cat tat ttc ttg acc cag ccg att		1488	
Glu Lys Ile Gln Cys Gly Ala His Tyr Phe Leu Thr Gln Pro Ile			
485	490	495	
tac tcg gaa gag aaa atc gtt gaa gtg cac gaa gcg acc aag cat ctt		1536	
Tyr Ser Glu Glu Lys Ile Val Glu Val His Glu Ala Thr Lys His Leu			
500	505	510	
gac acg ccg att tac atc ggc att atg ccg ctt gtg agc gcg cgc aac		1584	
Asp Thr Pro Ile Tyr Ile Gly Ile Met Pro Leu Val Ser Ala Arg Asn			
515	520	525	
gcc gac ttt ttg cat cat gaa gtg ccg ggc att acg ctc tct gac gag		1632	
Ala Asp Phe Leu His His Glu Val Pro Gly Ile Thr Leu Ser Asp Glu			
530	535	540	
att cgc gcc cgc atg gcc tgc agc ggc gac ccg gtg caa gca gcc		1680	
Ile Arg Ala Arg Met Ala Ala Cys Ser Gly Asp Pro Val Gln Ala Ala			
545	550	555	560

aag gaa ggc atc gct atc gcc aaa tcg ctc att gac gct gcg ttt gat 1728
 Lys Glu Gly Ile Ala Ile Ala Lys Ser Leu Ile Asp Ala Ala Phe Asp
 565 570 575

ttg ttt aac ggc att tat ttg atc acg ccg ttc ttg cgc tac gac atg 1776
 Leu Phe Asn Gly Ile Tyr Leu Ile Thr Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Met
 580 585 590

acg gtc gag ctt gtc cgc tac att cac gaa aaa gaa gcg gcc gcc aaa 1824
 Thr Val Glu Leu Val Arg Tyr Ile His Glu Lys Glu Ala Ala Ala Lys
 595 600 605

gaa agg aag gtt gtt cat ggc taa 1848
 Glu Arg Lys Val Val His Gly
 610 615

<210> 54
<211> 615
<212> PRT
<213> **Bacillus stearothermophilus**

<400> 54
Val Gly Leu Leu Asp Glu Leu Lys Glu Arg Ile Leu Ile Ala Asp Gly
 1 5 10 15
Ala Met Gly Thr Leu Leu Tyr Ser His Gly Ile Asp Arg Cys Phe Glu
 20 25 30

Glu Leu Asn Leu Ser Asn Pro Asp Glu Ile Val His Ile His Glu Ala
 35 40 45
Tyr Ile Ala Ala Gly Ala Asp Val Ile Gln Thr Asn Thr Tyr Gly Ala
 50 55 60

Asn Tyr Val Lys Leu Ala Arg Tyr Gly Leu Glu Asp Glu Val Pro Ala
 65 70 75 80

Ile Asn Arg Ala Ala Val Arg Leu Ala Arg Gln Ala Ala Asn Gly Arg
 85 90 95

Ala Tyr Val Leu Gly Thr Ile Gly Leu Arg Thr Leu Asn Lys Ser
 100 105 110

Val Val Thr Leu Glu Glu Val Lys Arg Thr Phe Arg Glu Gln Leu Phe
 115 120 125

Val Leu Leu Ala Glu Gly Val Asp Gly Val Leu Leu Glu Thr Tyr Tyr
 130 135 140

Asp Leu Glu Glu Leu Glu Thr Val Leu Ala Ile Ala Arg Lys Glu Thr
 145 150 155 160

Asp Leu Pro Ile Ile Ala His Val Ser Leu His Glu Val Gly Val Leu
 165 170 175

Gln Asp Gly Thr Pro Leu Ala Asp Ala Leu Ala Arg Leu Glu Ala Leu
 180 185 190

Gly Ala Asp Val Val Gly Leu Asn Cys Arg Leu Gly Pro Tyr His Met

195

200

205

Leu Arg Ser Leu Glu Glu Val Pro Leu Pro Asn Arg Ala Phe Leu Ser
210 215 220

Ala Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Pro Asp Tyr Arg Asp Gly Arg Leu Val
225 230 235 240

Tyr Glu Thr Asn Ala Glu Tyr Phe Glu Glu Thr Ala Lys Ala Phe Arg
245 250 255

Asp Gln Gly Val Arg Leu Ile Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr Pro Lys
260 265 270

His Ile Glu Ala Met Ala Lys Ala Leu Ser Asp Arg Thr Pro Val Thr
275 280 285

Glu Lys Thr Val Lys Arg Arg Ala Val Ser Val Ser Val Gln Ala Glu
290 295 300

Arg Pro Ala Pro Ser Pro Leu Pro Glu Leu Ala Arg Thr His Arg Ser
305 310 315 320

Val Ile Val Glu Leu Asp Pro Pro Lys Lys Leu Gly Ile Asp Lys Phe
325 330 335

Leu Ala Gly Ala Lys Ala Leu His Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Thr
340 345 350

Leu Ala Asp Asn Ser Leu Ala Thr Pro Arg Ile Ser Asn Ala Ala Val
355 360 365

Ala Thr Ile Ile Lys Glu Gln Leu Gly Ile Arg Pro Leu Val His Ile
370 375 380

Thr Cys Arg Asp Arg Asn Leu Ile Gly Leu Gln Ser His Leu Met Gly
385 390 395 400

Leu His Thr Leu Gly Ile Thr Asp Val Leu Ala Ile Thr Gly Asp Pro
405 410 415

Ser Lys Ile Gly Asp Phe Pro Gly Ala Thr Ser Val Tyr Asp Leu Ser
420 425 430

Ser Phe Asp Leu Ile Arg Leu Ile Arg Gln Phe Asn Glu Gly Leu Ser
435 440 445

Tyr Ser Gly Lys Pro Leu Gly Gln Lys Thr Asn Phe Ser Ile Gly Ala
450 455 460

Ala Phe Asn Pro Asn Val Arg His Leu Asp Lys Ala Val Glu Arg Met
465 470 475 480

Glu Lys Lys Ile Gln Cys Gly Ala His Tyr Phe Leu Thr Gln Pro Ile
485 490 495

Tyr Ser Glu Glu Lys Ile Val Glu Val His Glu Ala Thr Lys His Leu
500 505 510

Asp Thr Pro Ile Tyr Ile Gly Ile Met Pro Leu Val Ser Ala Arg Asn
515 520 525

Ala Asp Phe Leu His His Glu Val Pro Gly Ile Thr Leu Ser Asp Glu
530 535 540

Ile Arg Ala Arg Met Ala Ala Cys Ser Gly Asp Pro Val Gln Ala Ala
545 550 555 560

Lys Glu Gly Ile Ala Ile Ala Lys Ser Leu Ile Asp Ala Ala Phe Asp
565 570 575

Leu Phe Asn Gly Ile Tyr Leu Ile Thr Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Met
580 585 590

Thr Val Glu Leu Val Arg Tyr Ile His Glu Lys Glu Ala Ala Ala Lys
595 600 605

Glu Arg Lys Val Val His Gly
610 615

<210> 55

<211> 52

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 55

cccgggatcc gctagcggcg cgccggccgg cccgggtgtga aataccgcac ag

52

<210> 56

<211> 53

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 56

tctagactcg agcggccgca gccggccttt aaattgaaga cgaaaggccc tcg

53

<210> 57

<211> 47

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 57

gagatctaga cccggggatc cgctagcggg ctgctaaagg aagcgga

47

<210> 58

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 58

gagaggcgcg ccgcttagcgt gggcgaagaa ctccagca

38

<210> 59

<211> 34

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 59

gagagggcgg ccgcgcaaag tcccgcttcg tgaa

34

<210> 60

<211> 34

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 60

gagagggcgg ccgctcaagt cggtaagcc acgc

34

<210> 61

<211> 140

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 61

tcgaatttaa atctcgagag gcctgacgac gggcccggtt ccacgcgtca tatgactagt 60
tcggacccatggatatcgatc gacatcgatg ctcttctgcgtt aattaaca attggatcc 120
tctagacccggatttaaat 140

<210> 62

<211> 140

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 62

gatcatttaa atcccgggtt tagaggatcc caattgttaa ttaacgcaga agagcatcga 60
tgtcgacatgtt atcccttaggtt ccgaactagt catatgacgc gtggtaaccgg gccccacgtc 120
aggcctctcg agatttaat 140

<210> 63

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 63

gagagcggcc gccgatcctt tttAACCCat cac

33

<210> 64

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 64

aggagcggcc gccatcgga ttttcttttgc cg

32

<210> 65

<211> 5091

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Plasmid

<400> 65

gccgcgactg ctttcgcgaa gccttgcggcc gcgaaaattt cctccaccga gttcgtgcac 60
 acccctatgc caagttttt tcaccctaaa ttgcagagat tggatttttta ccgtggaaat 120
 tcttcgcaaa aatcgcccc tgatcgccct tgcgacgttgc gctcggtgc cgctgggtgc 180
 gcttggcttgc accgacttgc ttagccggccg ctcgatttaa atctcgagag gcctgacgtc 240
 gggcccggttgc ccacgcgtca tatgactagt tcggaccttgc ggatatcgtc gacatcgatg 300
 ctcttctgcg ttaattaaca attggatccc tctagacccg ggatttaaat cgctagcggg 360
 ctgctaaagg aagcggaaca cgtagaaaggc cagtccgcag aaacgggtgc gaccccgat 420
 gaatgtcaggc tactggggcta tctggacaag gaaaaacgcgca agcgcaaaga gaaagcagg 480
 agcttgcaatggcgttacat ggcgatagtc agactggcg gttttatggc cagcaagcga 540
 acccgaaatttgc ccagctgggg cggccctctgg taagggttggg aagccctgcgca aagtaaactg 600
 gatggcttc ttggccccaatggatctgtatgc ggcgcaggggta tcaagatctg atcaagagac 660
 aggatgagga tcgtttcgcgatggatcataaca agatggatgc cacgcagggttgc 720
 ttgggtggag aggttatttcg gctatgactg ggcacaaacag acaatcggtc gctctgtatgc 780
 cggcgttgc cggctgtcag cgcaggggcg cccgggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc 840
 cggtgcctgc aatgaacttgc aggacgaggc agcgcggctta tcgtggctgg ccacgacggg 900
 cgttccttgc gcagctgtgc tcgacgttgc tcaatggatgc ggaaggggact ggctgtctatt 960
 gggcgaatgt ccggggcagg atcttcgttc atctcacctt gtcctgcggc agaaagtatc 1020
 catcatgtct gatgtatgc ggcggctgcgatcc tacgtttgtat cccggcttgc gcccattcga 1080
 ccaccaagcg aaacatcgca tcgagcgagc acgtactcgatggatgc gtcgttgcgatg 1140
 tcaggatgtatgc tcggacgaaatgcgatcc agcatcgaggc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1200
 caaggcgcgcg atgcccgcg gcgaggatct cgtcgatgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1260
 gaatatcatgt gtggaaaatgc gccgttttc tggatttcatc gactgtggcc ggcgtgggtgt 1320
 ggcggacccgc tattcaggaca tagcgttggc taccctgtatgcattgttgcgatg gtcgttgcgatg 1380
 cgaatgggtgc gaccgcttcgatggatgc tcgtgttttgcgatggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1440
 cgccttcataatgc cgccttcgttgc acgaggatctt ctgagcggggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1500
 gaccaagcgatgc cggccaaacctt gccatcacgcgatggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1560
 aggttgggtgc tcggatgtatgc tcgtgttttgcgatggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1620
 ctcatgttgcgatggatgc tcgtgttttgcgatggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1680
 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcgtatgc gtcgttgcgatggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1740
 ctcgctgcgcgatggatgc tcgtgttttgcgatggatgc gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg gtcgttgcgatg 1800

acggttatcc acagaatca gggataacgc agaaaagaac atgtgagcaa aaggccagca 1860
 aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc 1920
 tgacgagcat cacaaaaaatc gacgctcaag tcagagggtgg cgaardccga caggactata 1980
 aagataccag gcgccccccc ctggaaagtc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc 2040
 gcttaccgga tacctgtcgg ccttctccc ttcggaaagc gtggcgctt ctcatalogtc 2100
 acgctgttagg tatctcagtt cggtgttaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtcacga 2160
 accccccgtt cagccccgacc gctgcgcctt atccggtaac ttcgtcttg agtccaaccc 2220
 ggtaaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggattt aacagagcgag 2280
 gtatgttaggc ggtgctacag agttcttcaa gtgggtggcct aactacggct acactagaag 2340
 gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttccggaaaaaa gagttggtag 2400
 ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtgg tttttgttt gcaagcagca 2460
 gattacgcgc agaaaaaaaaa gatctcaaga agatcctttt atcttttcta cggggctctga 2520
 cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gatTTTGGTC atgagattat caaaaaggat 2580
 cttcacccatg atccctttaa aggccggccg cggccgcgc aagtcccgct tcgtaaaaat 2640
 ttctcgccg cgtgattttc cgccaaaaac tttaacgaac gttcgttata atgggtgtcat 2700
 gacccctacg acgaagtact aaaattggcc cgaatcatca gctatggatc tctctgtatgt 2760
 cgcgctggag tccgacgcgc tcgatgtgc cgtcgattta aaaacgggtga tcggattttt 2820
 ccgagctctc gatacgacgg acgcgcgc ccaacaaacg atcacgagac tggccagtg cgcgcagcga 2880
 cctagaaact ctcgtggccg atcttggaa gctggctgac gagctgcgtg ctcggccagc 2940
 gccaggagga cgacacagt taggaggatgc aatcagttgc gcctactgcg gtggcctgat 3000
 tcctccccgg cctgaccgc gaggacggcg cgcaaaatat tgctcagatg cgtgtcggtc 3060
 cgcagccagc cgcgagcgcc ccaacaaacg ccacgcccag gagctggagg cggctaggtc 3120
 gcaaattggcg ctggaaagtgc gtccccccgag cgaaattttt gccatggtcg tcacagagct 3180
 ggaagcggca gcgagaattt tcgcgatcgt ggcggtgccc gcaggcatga caaacatcgt 3240
 aaatgcccg tttcggtgtc cgtggccgccc caggacgtgt cagcgcgc accacctgca 3300
 ccgaatccgc agcagcgtcg cgcgtcgaaa aagcgcacag gcccgaagaa gcgataagct 3360
 gcacgaatac ctgaaaaatg ttgaacgcgc cgtgagcggt aactcacagg gcgtcggcta 3420
 accccccatgc caaacctggg agaaacgcct caaaaatgac tctagcggat tcacagagaca 3480
 ttgacacacc ggcctggaaa tttccgctg atctgttcga caccatccc gagctcgcc 3540
 tgcgatcactg tggctggacg agcgaagacc gccgcgaatt cctcgctcac ctggcagag 3600
 aaaatttcca gggcagcaag acccgcact tcgcccagcgc ttggatcaaa gaccggaca 3660
 cggagaaaca cagccgaagt tataccgagt tggttcaaaa tcgcttgcgc ggtgccagta 3720
 tggctctg acgcacgcgc agcacgcage cgtgttgcg ctggacattt atgtgcccag 3780
 ccaccagcc ggcggggaaaa tcgagcacgt aaaccccgag gtctacgcga ttttggagcg 3840
 ctgggcacgc ctggaaaaag cgccagctt gatcggcggt aatccactga gcgggaaatg 3900
 ccagctcatc tggctcattt atccgggtta tgccgcagca ggcattgagca gcccgaatat 3960
 ggcctgctg gctgcaacga cggagaaat gacccgcgtt ttccggcgctg accaggctt 4020
 ttcacatagg ctgagccgtg gccactgcac tctccgacga tcccagccgt accgctggca 4080
 tggccagcac aatcgcgtgg atcgccttagc tgatctttagt gaggttgcgc gcatgatctc 4140
 aggacacagaa aaacctaaaa aacgcctatga gcaggagtt tctagcggac gggcacgtat 4200
 cgaagcggca agaaaaagccca ctgcgaaagc aaaagcactt gccacgcgtt aagcaagcct 4260
 gcccagcgcc gctgaaagcgt ctggagagct gatcgcacggc gtccgtgtcc tctggactgc 4320
 tccagggcgt gcccggcggt atgagacggc ttttcgcac gctttgactg tgggatacca 4380
 gttaaaagcg gctgggtgagc gcctaaaaga caccaagggt catcgacgc acgacgcgtc 4440
 ctacaccgtc gtcaggcggt tcggaggagg cctgtgagctt gatctgcgc cggactgtga 4500
 cccgcagacg gattggccgc gacgtgtcg cggctacgtc gctaaaggcc agccagtcgt 4560
 ccctgctcgt cagacagaga cgcagaccca gcccggcgaa aagactctgg ccactatggg 4620
 aagacgtggc ggtaaaaagg cgcacaaacg ctggaaagac ccaaacagtg agtacgccc 4680
 agcacacgcgaa gaaaaactag ctaagtccag tcaacgcacaa gctaggaaag ctaaaggaaa 4740
 tgcgttgcacc attgcagggtt gtttatgac tgggtggagg gagaactggct cgtggccgac 4800
 aatcaatgaa gctatgtctg aatttagcgt gtcacgtcag accgtgaata gagcactaa 4860
 ggtctgcggg cattgaactt ccacgaggac gcccggaaatc tccagtaaa tgcgtccatct 4920
 cgtaggcaga aaacgggtcc cccgtagggt ctctcttttgc gcttcctttc taggtcgggc 4980
 tgattgtct tgaagctctc tagggggct cacaccatag gcagataacg ttccccaccg 5040
 gtcgcctcg taagcgcaca aggactgcgc ccaaagatct tcaagccac t 5091

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 66

tctctcagcg tatgggtgtc gcctgagctg tagttgcctt catcgatgaa ctgctgtaca 60
 ttttgatacg ttttccgtc accgtcaaag attgatttat aatcctctac accgttgatg 120
 ttcaaaagagc tgtctgatgc tgatacgtta acttgtgcag ttgtcagtgt ttgtttgccg 180
 taatgtttac cggagaaaatc agttagaaat aaacggatt ttccgtcaga tgtaaatgtg 240
 gctgaacctg accattcttgc tggttggct tttaggatag aatcatttgc atcgaatttg 300
 tcgctgtctt taaagacgcg gccagcggtt ttccagctgt caatagaagt ttgcggact 360
 ttttgataga acatgtaaat cgatgtgtca tccgcattt taggatctcc ggctaattgca 420
 aagacgtatg ggtagccgtg atagttgcg acagtgcgt cagcgttttga taatggccag 480
 ctgtccccaa cgtccaggcc tttgcagaa gagatattt taattgtgga cgaatcaa 540
 tcagaaacctt gatatttttc attttttgc tggtcaggga ttgcagcat atcatggcgt 600
 gtaatatggg aaatccgtt tggttcctt tatggctttt ggttcggtt ttcgcaaaac 660
 gcttgagttt cgccttctgc cagcagtgcg gtatgaaagg ttaatactgt tgcttgggtt 720
 gcaaaacttt tgatgttcat cggtcatgtc tcccttttta tgcgttgcgt tagcggctg 780
 cttcttccag cccttctgtt tgaagatggc aagttgttca cgcacaataa aaaaagacct 840
 aaaatatgtt aggggtgacg ccaaagtata cactttgcctt ttacacatt ttaggtctt 900
 cctgctttat cagtaacaaa cccgcgcgtt ttacttttgc acctcattctt attagactct 960
 cgtttggatt gcaactggc tattttctc ttttgggttga tagaaaatca taaaaggatt 1020
 tgcagactac gggcctaaag aactaaaaaa tctatctgtt tcttttattt ctctgttattt 1080
 tttatagttt ctgttgcattt ggcataaaatg tgccttttta atcacaattt agaaaatatc 1140
 ataataatcttcc atttactaa ataatagtga acggcaggta tatgtgtatgg gttaaaaagg 1200
 atcggcgccc getcgattt aatctcgaga ggcctgacgt cggccccggg accacgcgtc 1260
 atatgacttag ttccggaccta gggatatcgat cgacatcgat gctttctgc gttattaac 1320
 aattgggatc ctctagacccc gggatttaaa tgcgtacggg gctgtttaaaatc 1380
 acgttagaaag ccagtccgca gaaacgggtc tgaccccccggaa tgaatgtcag ctactgggtt 1440
 atctggacaa gggaaaacgc aagcgcacaa agaaagcagg tagttgcag tggcattaca 1500
 tggcgatagc tagactgggc gttttatgg acagcaagcg aaccggattt gccagctggg 1560
 gcccgccttc gtaagggtgg gaagccctgc aaagtaactt ggtggctttt cttgcgcaca 1620
 aggatctgtat ggcgcaggggg atcaagatct gatcaagaga caggatgagg atcgttcgc 1680
 atgattgaac aagatggattt gcaacgcagg ttcggccgg cttgggttga gaggctattt 1740
 ggctatgact gggcacaaca gacaatcgcc tgctctgtat ccggcgtgtt ccggctgtca 1800
 ggcgcaggggc gcccgggtt tttgtcaag accgacctgt ccgggtccctt gaatgaactg 1860
 caggacgagg cagcgcggct atcgtggctg gccacgacgg gcgttcccttgc cgcagctgt 1920
 ctcgacgttgc tcaactgaagc gggaaaggac tggctgtat tggcgaatgtt gccggggcag 1980
 gatcttctgtt catctcacct tgctctgtcc gagaaagtat ccatcatggc tgatgcaatg 2040
 cggcgctgc atacgcttga tccggctacc tgcccattcg accaccaagc gaaacatcg 2100
 atcgcgcgag cacgtactcg gatggaaagcc ggtttgtcg atcaggatga tctggacgaa 2160
 gagcatcagg ggctcgccgca agccgaactt ttcgcccggc tcaaggcgcg catgccccac 2220
 ggcgaggatc tgcgtgtac ccattggcat gcctgcttgc cgaatatcat ggtggaaaat 2280
 ggcgcctttt ctggattcat cgactgtggc cggctgggtt tggcggaccg ctatcaggac 2340
 atagcggtgg ctacccgtga tattgtgaa gagttggcg gcgaatggggc tgaccgctt 2400
 ctcgtgtttt acgttatcgcc cgctccgtt acgttatcgca tcgccttcttca tcgccttctt 2460
 gacgaggatc tctgagcggtt actctgggt tgcggatgac cgaccaagcg acgccccacc 2520
 tgccatcacg agatttcgtat tccaccggccg cttcttatga aaggtgggc ttgcggatcg 2580
 tttccggga cgcggctgg atgatcttcc agcgcggggg tctcatgtcg gagttttcg 2640
 cccacgttag cggcgccggc gcccggccgg tgcgttgcgtt cgcacagatg cgtaaggaga 2700
 aaataccgca tcaggcgctc ttccgcttcc tcgtctactg actcgctgcg ctcggctgtt 2760
 cggctgcggc gagcggtatc agctcaacta aaggcggtaa tacggttatc cacagaatca 2820
 ggggataacg cagaaagaa catgtgagca aaggccacg aaaaggccag gaaccgtaaa 2880
 aaggccgcgt tgctggcggtt tttccatagg ctccggcccc ctgacgagca tcacaaaaat 2940
 cgacgctcaa gtcaagagggtt gcaaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgtttccc 3000
 cctggaaagct ccctcggtcg ctctctgtt ccgcacccgtc cgcttaccgg atacctgtcc 3060
 gcctttctcc ctccggaaag cgtggcgctt tctcatagct cacgctgttag gtatctcagt 3120
 tcgggtgttgg tgcgtgttgc caagctggc tgcgtgcacg aaccccccgt tcagccccac 3180
 cgctgcgcctt atacccgtaa ctatcgctt gagtccaacc cggtaaagaca cgacttacg 3240
 ccactggcag cagccactgg taacaggattt agcagagcga ggtatgttgg cggtgttaca 3300

gagttcttga agtggtggcc taactacggc tacactagaa ggacagtatt tggtatctgc 3360
gctctgctga agccagttac cttcggaaaa agagttggta gctcttgatc cggcaaacaa 3420
accaccgctg gtacgggtgg tttttttgtt tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaaa 3480
ggatctcaag aagatccccc gatctttct acggggctcg acgctcagtg gaacgaaaac 3540
tcacgttaag ggattttgtt catagatttcaaaaaagga ttttcaccta gatccctttta 3600
aaggccggcc gcggccgcca tcggcatttt ctttgcgtt ttatgttt aactgttaat 3660
tgtccttgcgtt caaggatgtt gtcttgaca acagatgttt tttgcctt gatgttcagc 3720
aggaagctcg ggcgcaaacgt tgattgttg tctgcgtaga atcctctgtt tgtcatata 3780
cttgtaatca cgacattgtt tccttcgct tgaggtacag cgaagtgtga gtaagtaaag 3840
gttacatcgtaggtatcaag atccattttt aacacaaggc cagttttgtt cagcggctt 3900
tatgggccag ttaaagaatt agaaacataa ccaagcatgt aaatatcggtt agacgtaatg 3960
ccgtcaatcg tcatttttga tccgcgggag tcagtgaaca gttaccatattt gccgttcatt 4020
ttaaagacgt tcgcgcgttc aatttcatct gttactgtgt tagatgcaat cagcggtttc 4080
atcactttt tcagtgtgtt atcatcggtt agctcaatca taccgagagc gccgtttgct 4140
aactcagccg tgcgtttttt atcgcttgc agaagttttt gactttcttg acgaaagaat 4200
gatgtgtttt tgccatagta tgctttgtta aataaagatt ctgcgcctt gtagccatct 4260
tcagttccag tgtttgcttc aaatactaag tatttggc ctttatcttc tacgtgtga 4320
gga 4323

<210> 67

<211> 35

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

<400> 67

gagagagaga cgcgtcccaag tggctgagac gcatac

35

<210> 68

<211> 34

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

<400> 68

ctctctctgt cgacgaattc aatcttacgg cctg

34

<210> 69

<211> 5860

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 69	
cccggtacca cgcgccccag tggctgagac gcattcgcta aagccccagg aaccctgtgc	60
agaaaagaaaa cactcctctg gctaggtaga cacagttat aaaggttagag ttgagcgggt	120
aactgtcagc acgttagatcg aaaggtgcac aaaggtggcc ctggcgtac agaaatatgg	180
cggttcctcg cttgagagtg cggaacgcac tagaaacgta gctgaacgga tcgttgcac	240
caagaaggt ggaaatgatg tcgtggttgt ctgctccgca atggagaca ccacggatga	300
acttctagaa cttgcagcgg cagtgaatcc cggtccgcca gctcgtgaaa tggatatgct	360
cctgactgt ggtgagcgtt tttctaacgc tctcgtcgccc atggctattt agtcccttgg	420
cgcagaagcc caatcttca cgggctctca ggctgggtgt ctcaccaccc agcgccacgg	480
aaacgcacgc attgtttagt tcactccagg tcgtgtcggt gaagcactcg atgagggcaa	540
gatctgcatt gttgctgggtt tccagggtgt taataaagaa acccgcgatg tcaccacgtt	600
gggtcggtt ggttctgaca ccactgcagt tgcgttggca gctgcttga acgctgatgt	660
gtgtgagatt tactcggacg ttgacgggtt gtataccgct gacccgcgca tcgttctaa	720
tgcacagaag ctgaaaaagc tcagttcga agaaatgctg gaacttgcgt ctgttggctc	780
caagattttt gtgctgcgca gtgttataa cgcgtgtca ttcaatgtgc cacttcgcgt	840
acgctcgct tatagtaatg atccccggcac tttgattgcc ggctctatgg aggatattcc	900
tgtggaaagaa gcagtcctta ccgggtgtcgca aaccgacaag tccgaagccaa aagtaaccgt	960
tctgggtatt tccgataagc caggcgaggc tgcgaagggtt ttccgtcggt tggctgatgc	1020
agaaatcaac attgacatgg ttctgcagaa cgtctcttct gtataagacg gcaccacccga	1080
catcacccctt acctgccttc gttccgacgg ccggccgcgcg atggagatct tgaagaagct	1140
tcagggttcag ggcaacttggaa ccaatgtgtt ttacgacgc cagggtggca aagtctccct	1200
cgtgggtgtt ggcattgttgcgtt ctcacccagg tggttaccgca gagttcatgg aagctctgcgt	1260
cgtgtcaac gtgaacatcg aattgatttc cacctctgag attcgatattt ccgtgtgtat	1320
ccgtgaagat gatctggatg ctgctgcacg tgcattgcac gaggcgttcc agctggccgg	1380
cgaagacgaa gccgtcgaaa atgcaggcac cggacgctaa agttttaaag gagtagttt	1440
acaatgacca ccatcgcaatgttgcgtt accggccagg tcggccaggat tatgcgcacc	1500
cttttggaaag agcgcaattt cccagctgac actgttcgtt tctttgcctt cccacgttcc	1560

gcaggccgta agattgaatt cgtcgacatc gatgctttc tgcgttaatt aacaattggg	1620
atcctctaga cccgggattt aaatcgctag cgggctgcta aaggaagcgg aacacgtaga	1680
aagccagtcc gcagaaaacgg tgctgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga	1740
caagggaaaa cgcaagcgca aagagaaagc aggttagctt cagtggcgtt acatggcgat	1800
agctagactg ggcgggttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct gggcgccct	1860
ctggtaaggt tgggaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttcttgccg ccaaggatct	1920
gatggcgcag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcggtt cgcatgattt	1980
aacaagatgg attgcacgca gtttctccgg ccgcttgggt ggagaggcta ttccgctatg	2040
actgggcaca acagacaatc ggctgctctg atgcccgggt gtccggctg tcagcgcagg	2100
ggcgccccgt tcttttgtc aagaccgacc tgtccggtgc cctgaatgaa ctgcaggacg	2160
aggcagcgcg gctatcggtt ctggccacga cgggcgttcc ttgcgcagct gtgcgcacg	2220
ttgtcactga agcgggaagg gactggctgc tattggcga agtgcggggg caggatctcc	2280
tgtcatctca ctttgcctt gccgagaaag tatccatcat ggctgatgca atgcggcgcc	2340
tgcatacgct tgatccggct acctgccccat tcgaccacca agcgaaacat cgcatcgagc	2400
gagcacgtac tcggatggaa gccggctttg tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc	2460
aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc gcgcattcccc gacggcgagg	2520
atctcgctgt gacccatggc gatgcctgct tgccgaatat catggtggaa aatggccgct	2580
tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcgga ccgctatcag gacatagcgt	2640
tggctacccg tgatattgct gaagagcttgc gcccggaaat ggctgaccgc ttccctcggtc	2700
tttacggtat cgccgctccc gattcgcagc gcatgcctt ctatgcctt cttgacgagt	2760
tcttcgagc gggactctgg gttcgaaat gaccgaccaa gcgacgcccc acctgcccattc	2820
acgagatttc gatccacccg ccgccttcta tgaaagggttgg ggttcggaa tcgtttccg	2880
ggacgccccgc tggatgatcc tccagcgcgg ggtctcatg ctggagttct tcgcccacgc	2940
tagcggcgcg ccggccggcc cggtgtgaaa taccgcacag atgcgttaagg agaaaaatacc	3000
gcatcaggcg ctcttcggct tcctcgctca ctgactcgct gcgcctggc gttccggctgc	3060
ggcgagcggt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaaa tcagggata	3120
acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaaggcc agcaaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg	3180
cgttgctggc gttttccat aggctccggcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct	3240
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcggtt cccctggaa	3300
gtccctcggt ggcgttcctt gttccgaccc tgccgcttac cggataacctg tccgccttcc	3360

tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg tagtatctc agttcggtgt	3420
aggtegttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgctg	3480
ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta tcgcccactgg	3540
cagcagccac tggtaaacagg attagcagag cgaggtatgt aggccgtgct acagagttct	3600
tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatac tgccgtctgc	3660
tgaagccagt tactttcgga aaaagagttg gtagctctg atccggcaaa caaaccaccg	3720
ctggtagcgg tggttttttt gtttgcagaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc	3780
aagaagatcc tttgatcttt tctacgggggt ctgacgctca gtggAACGAA aactcacgtt	3840
aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaaa ggatcttac cttagatcattt ttaaaggccg	3900
ccgcggccg ccacggcat tttctttgc gtttttattt gtttaactgtt aattgtccctt	3960
gttcaaggat gctgtctttg acaacagatg tttcttgcc tttgatgttc agcaggaagc	4020
tcggcgcaaa cgttgattgt ttgtctgcgt agaattcctt gtttgcata tagcttgtaa	4080
tcacgacatt gtttccccc gcttgaggta cagcgaagtg tgagtaagta aaggttacat	4140
cgttaggatc aagatccatt ttaacacaaa ggccagttt gttcagccgc ttgtatggc	4200
cagttaaaga attagaaaca taaccaagca tgtaaatatc gttagacgta atgccgtcaa	4260
tcgtcatttt tgatccgcgg gagtcagtga acaggtacca tttgccgttc attttaaaga	4320
cgttcgcgcg ttcaatttca tctgttactg tgtagatgc aatcagccgtt ttcatcactt	4380
ttttcagtgt gtaatcatcg tttagctcaa tcataccgag agcgcgcgtt gctaactcag	4440
ccgtgcgttt ttatcgctt tgcagaagtt tttgacttcc ttgacggaag aatgatgtgc	4500
ttttgccata gtagctttg ttaaataaaag attcttcgcc ttggtagccca tttcagttc	4560
cagtgttgc ttcaaataact aagtatttgc ggcctttatc ttctacgttag tgaggatctc	4620
tcagcgtatg gttgtcgct gagctgttagt tgccttcatc gatgaactgc tgtacatttt	4680
gatacgtttt tccgtcaccg tcaaagattt atttataatc ctctacaccg ttgatgttca	4740
aagagctgtc tgatgtctgat acgttaactt gtgcagttgt cagtgtttgt ttgcgcgtat	4800
gtttaccgga gaaatcagtg tagaataaaac ggattttcc gtcagatgta aatgtggctg	4860
aacctgacca ttcttgcgtt tggctttta ggatagaatc atttgcacatcg aatttgcgc	4920
tgtctttaaa gacgcggcca gcgttttcc agctgtcaat agaagttcg ccgacttttt	4980
gatagaacat gtaaatcgat gtgtcatccg catttttagg atctccggct aatgcaaaaga	5040
cgatgtggta gccgtgatag tttgcgacag tgccgtcagc gttttgtat ggccagctgt	5100
cccaaacgtc caggcctttt gcagaagaga tattttaat tggacgaa tcaaattcag	5160
aaacttgata ttttcattt tttgctgtt cagggatttgc cagcatatca tggcgtgtaa	5220

tatggaaat gccgtatgtt tccttatatg gctttggtt cgtttcttc gcaaacgctt 5280
gagttgcgcc tcctgccagc agtgccgttag taaaggtaa tactgttgct tgtttgcaa 5340
actttttgat gttcacatcggtt catgtctcct ttttatgtt ctgtgttagc ggtctgcttc 5400
ttccagccct cctgtttgaa gatggcaagt tagttacgca caataaaaaaa agacctaaaa 5460
tatgttaagggttgacgccaa agtatacact ttgccttta cacattttag gtcttgctg 5520
ctttatcagt aacaaaccggc cgcgatttac ttttcgacct cattctatta gactctcggtt 5580
tggattgcaatcggtcttattttt gtttgataga aaatcataaa aggatttgca 5640
gactacgggc ctaaagaact aaaaaatcta tctgtttctt ttcattctct gtattttta 5700
tagtttctgt tgcattggca taaagttgcc ttttaatca caattcagaa aatatcataaa 5760
tatctcattt cactaaataa tagtgaacgg caggtatatg tgatgggtta aaaaggatcg 5820
gcggccgctc gatttaaatc tcgagaggcc tgacgtcggtt 5860

<210> 70

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

<400> 70

cggcaccacc gacatcatct tcacctgccc tcgttccgg

38

<210> 71

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR Primer

<400> 71

cggAACGAGG GCAGGTGAAG ATGATGTCGG TGGTGCCG

38

<210> 72

<211> 1266

<212> DNA

<213> LysC Mutante

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1266)

<223>

>	<400>	72	
	gtg gcc ctg gtc gta cag aaa tat ggc ggt tcc tcg ctt gag agt gcg		48
	Val Ala Leu Val Val Gln Lys Tyr Gly Gly Ser Ser Leu Glu Ser Ala		
	1 5 10 15		
	gaa cgc att aga aac gtc gct gaa cggt atc gtt gcc acc aag aag gct		96
	Glu Arg Ile Arg Asn Val Ala Glu Arg Ile Val Ala Thr Lys Lys Ala		
	20 25 30		
	gga aat gat gtc gtg gtt gtc tgc tcc gca atg gga gac acc acg gat		144
	Gly Asn Asp Val Val Val Cys Ser Ala Met Gly Asp Thr Thr Asp		
	35 40 45		
	gaa ctt cta gaa ctt gca gcg gca gtg aat ccc gtt ccg cca gct cgt		192
	Glu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Val Asn Pro Val Pro Pro Ala Arg		
	50 55 60		
	gaa atg gat atg ctc ctg act gct ggt gag cgt att tct aac gct ctc		240
	Glu Met Asp Met Leu Leu Thr Ala Gly Glu Arg Ile Ser Asn Ala Leu		
	65 70 75 80		
>	gtc gcc atg gct att gag tcc ctt ggc gca gaa gcc caa tct ttc acg		288
	Val Ala Met Ala Ile Glu Ser Leu Gly Ala Glu Ala Gln Ser Phe Thr		
	85 90 95		
	ggc tct cag gct ggt gtg ctc acc acc gag cgc cac gga aac gca cgc		336
	Gly Ser Gln Ala Gly Val Leu Thr Thr Glu Arg His Gly Asn Ala Arg		
	100 105 110		
	att gtt gat gtc act cca ggt cgt gtg cgt gaa gca ctc gat gag ggc		384
	Ile Val Asp Val Thr Pro Gly Arg Val Arg Glu Ala Leu Asp Glu Gly		
	115 120 125		
	aag atc tgc att gtt gct ggt ttc cag ggt gtt aat aaa gaa acc cgc		432
	Lys Ile Cys Ile Val Ala Gly Phe Gln Gly Val Asn Lys Glu Thr Arg		
	130 135 140		
	gat gtc acc acg ttg ggt cgt ggt tct gac acc act gca gtt gcg		480
	Asp Val Thr Thr Leu Gly Arg Gly Ser Asp Thr Thr Ala Val Ala		
	145 150 155 160		
	ttg gca gct gct ttg aac gct gat gtg tgt gag att tac tcg gac gtt		528
	Leu Ala Ala Ala Leu Asn Ala Asp Val Cys Glu Ile Tyr Ser Asp Val		

165	170	175	
gac ggt gtg tat acc gct gac ccg cgc atc gtt cct aat gca cag aag Asp Gly Val Tyr Thr Ala Asp Pro Arg Ile Val Pro Asn Ala Gln Lys 180	185	190	576
ctg gaa aag ctc agc ttc gaa gaa atg ctg gaa ctt gct gct gtt ggc Leu Glu Lys Leu Ser Phe Glu Glu Met Leu Glu Leu Ala Ala Val Gly 195	200	205	624
tcc aag att ttg gtg ctg cgc agt gtt gaa tac gct cgt gca ttc aat Ser Lys Ile Leu Val Leu Arg Ser Val Glu Tyr Ala Arg Ala Phe Asn 210	215	220	672
gtg cca ctt cgc gta cgc tcg tct tat agt aat gat ccc ggc act ttg Val Pro Leu Arg Val Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Asp Pro Gly Thr Leu 225	230	235	720
att gcc ggc tct atg gag gat att cct gtg gaa gaa gca gtc ctt acc Ile Ala Gly Ser Met Glu Asp Ile Pro Val Glu Glu Ala Val Leu Thr 245	250	255	768
ggg gtc gca acc gac aag tcc gaa gcc aaa gta acc gtt ctg ggt att Gly Val Ala Thr Asp Lys Ser Glu Ala Lys Val Thr Val Leu Gly Ile 260	265	270	816
tcc gat aag cca ggc gag gct gcg aag gtt ttc cgt gcg ttg gct gat Ser Asp Lys Pro Gly Glu Ala Ala Lys Val Phe Arg Ala Leu Ala Asp 275	280	285	864
gca gaa atc aac att gac atg gtt ctg cag aac gtc tct tct gta gaa Ala Glu Ile Asn Ile Asp Met Val Leu Gln Asn Val Ser Ser Val Glu 290	295	300	912
gac ggc acc acc gac atc atc ttc acc tgc cct cgt tcc gac ggc cgc Asp Gly Thr Thr Asp Ile Ile Phe Thr Cys Pro Arg Ser Asp Gly Arg 305	310	315	960
cgc gcg atg gag atc ttg aag aag ctt cag gtt cag ggc aac tgg acc Arg Ala Met Glu Ile Leu Lys Lys Leu Gln Val Gln Gly Asn Trp Thr 325	330	335	1008
aat gtg ctt tac gac gac cag gtc ggc aaa gtc tcc ctc gtg ggt gct Asn Val Leu Tyr Asp Asp Gln Val Gly Lys Val Ser Leu Val Gly Ala 340	345	350	1056
ggc atg aag tct cac cca ggt gtt acc gca gag ttc atg gaa gct ctg Gly Met Lys Ser His Pro Gly Val Thr Ala Glu Phe Met Glu Ala Leu 355	360	365	1104
cgc gat gtc aac gtg aac atc gaa ttg att tcc acc tct gag att cgt Arg Asp Val Asn Val Asn Ile Glu Leu Ile Ser Thr Ser Glu Ile Arg 370	375	380	1152
att tcc gtg ctg atc cgt gaa gat gat ctg gat gct gct gca cgt gca Ile Ser Val Leu Ile Arg Glu Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ala Arg Ala 385	390	395	1200
ttg cat gag caa ttc cag ctg ggc ggc gaa gac gaa gcc gtc gtt tat Leu His Glu Gln Phe Gln Leu Gly Gly Glu Asp Glu Ala Val Val Tyr 405	410	415	1248

gca ggc acc gga cgc taa
Ala Gly Thr Gly Arg
420

1266

<210> 73
<211> 421
<212> PRT
<213> LysC Mutante

<400> 73

val Ala Leu Val Val Gln Lys Tyr Gly Gly Ser Ser Leu Glu Ser Ala
1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Asn Val Ala Glu Arg Ile Val Ala Thr Lys Lys Ala
20 25 30

Gly Asn Asp Val Val Val Cys Ser Ala Met Gly Asp Thr Thr Asp
35 40 45

Glu Leu Leu Glu Leu Ala Ala Val Asn Pro Val Pro Pro Ala Arg
50 55 60

Glu Met Asp Met Leu Leu Thr Ala Gly Glu Arg Ile Ser Asn Ala Leu
65 70 75 80

Val Ala Met Ala Ile Glu Ser Leu Gly Ala Glu Ala Gln Ser Phe Thr
85 90 95

Gly Ser Gln Ala Gly Val Leu Thr Thr Glu Arg His Gly Asn Ala Arg
100 105 110

Ile Val Asp Val Thr Pro Gly Arg Val Arg Glu Ala Leu Asp Glu Gly
115 120 125

Lys Ile Cys Ile Val Ala Gly Phe Gln Gly Val Asn Lys Glu Thr Arg
130 135 140

Asp Val Thr Thr Leu Gly Arg Gly Ser Asp Thr Thr Ala Val Ala
145 150 155 160

Leu Ala Ala Ala Leu Asn Ala Asp Val Cys Glu Ile Tyr Ser Asp Val
165 170 175

Asp Gly Val Tyr Thr Ala Asp Pro Arg Ile Val Pro Asn Ala Gln Lys
180 185 190

Leu Glu Lys Leu Ser Phe Glu Glu Met Leu Glu Leu Ala Ala Val Gly
195 200 205

Ser Lys Ile Leu Val Leu Arg Ser Val Glu Tyr Ala Arg Ala Phe Asn
210 215 220

Val Pro Leu Arg Val Arg Ser Ser Tyr Ser Asn Asp Pro Gly Thr Leu
225 230 235 240

Ile Ala Gly Ser Met Glu Asp Ile Pro Val Glu Glu Ala Val Leu Thr
245 250 255

Gly Val Ala Thr Asp Lys Ser Glu Ala Lys Val Thr Val Leu Gly Ile
260 265 270

Ser Asp Lys Pro Gly Glu Ala Ala Lys Val Phe Arg Ala Leu Ala Asp
275 280 285

Ala Glu Ile Asn Ile Asp Met Val Leu Gln Asn Val Ser Ser Val Glu
290 295 300

Asp Gly Thr Thr Asp Ile Ile Phe Thr Cys Pro Arg Ser Asp Gly Arg
305 310 315 320

Arg Ala Met Glu Ile Leu Lys Lys Leu Gln Val Gln Gly Asn Trp Thr
325 330 335

Asn Val Leu Tyr Asp Asp Gln Val Gly Lys Val Ser Leu Val Gly Ala
340 345 350

Gly Met Lys Ser His Pro Gly Val Thr Ala Glu Phe Met Glu Ala Leu
355 360 365

Arg Asp Val Asn Val Asn Ile Glu Leu Ile Ser Thr Ser Glu Ile Arg
370 375 380

Ile Ser Val Leu Ile Arg Glu Asp Asp Leu Asp Ala Ala Ala Arg Ala
385 390 395 400

Leu His Glu Gln Phe Gln Leu Gly Gly Glu Asp Glu Ala Val Val Tyr
405 410 415

Ala Gly Thr Gly Arg
420

<210> 74

<211> 5860

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 74 cccggtagcca cgcgtcccag tggctgagac gcatccgcta aagccccagg aaccctgtgc 60
agaaaagaaaa cactcctctg gctaggtaga cacagtttat aaaggttagag ttgagcgggt 120
aactgtcagc acgttagatcg aaaggtgcac aaaggtggcc ctggtcgtac agaaatatgg 180
cggttccctcg cttgagagtg cgaaacgcat tagaaacgtc gctgaacgga tcgttgccac 240
caagaaggct ggaaatgatg tcgtggttgt ctgctccgca atgggagaca ccacggatga 300
acttcttagaa cttgcagcgg cagtgaatcc cggtccgcca gctcgtgaaa tggatatgct 360
cctgactgct ggtgagcgta tttctaaccgc tctcgccatggctattg agtcccttgg 420
cgccagaagcc caatcttca cgggctctca ggctgggtgt ctcaccacccg agcgccacgg 480
aaacgcacgc attgtttagt tcactccagg tcgtgtgcgt gaagcactcg atgagggcaa 540
gatctgcatt gttgctgggtt tccaggggtgt taataaaagaa acccgcgatg tcaccacgtt 600
gggtcgtgggt ggttctgaca ccactgcagt tgcgttggca gctgcttga acgctgatgt 660
gtgtgagatt tactcgacg ttgacgggtgt gtataccgct gacccgacgca tcgttcctaa 720
tgcacagaag ctggaaaagc tcagcttcga agaaatgctg gaacttgctg ctgttggctc 780
caagattttgcgtgcgtca gtgttgaata cgctcgatgc ttcaatgtgc cacttcgcgt 840
acgctcgatct tatagtaatg atcccgac tttgattgcc ggctctatgg aggatattcc 900
tgtggaaagaa gcagtcctta cccgtgtcgc aaccgacaaag tccgaagccaa aagtaaccgt 960
tctgggtatt tccgataagc caggcgaggc tgcgaagggtt ttccgtgcgt tggctgatgc 1020
agaaaatcaac attgacatgg ttctgcagaa cgtctcttct gttagaagacg gcaccacccga 1080
catcatcttc acctgccttc gttccgacgg ccgcgcgcgt atggagatct tgaagaagct 1140
tcagggttcag ggcaactgga ccaatgtgc ttacgacgcac caggtcggca aagtctccct 1200
cgtgggtgct ggcataatgttgcgtccacccagg tgtaaccgca gagttcatgg aagctctgcgt 1260
cgatgtcaac gtgaacatcg aattgatttc cacctctgag attcgttattt ccgtgctgat 1320

ccgtgaagat gatctggatg ctgctgcacg tgcattgcat gagcagttcc agctggcg	1380
cgaagacgaa gccgtcgaaa atgcaggcac cggacgctaa agttttaaag gagtagttt	1440
acaatgacca ccatcgcagt tggtggcga accggccagg tcggccaggt tatgcgcacc	1500
cttttggaaag agcgcaattt cccagctgac actgttcgtt tctttgcttc cccacgttcc	1560
gcaggccgta agattgaatt cgtcgacatc gatgctcttc tgcgttaatt aacaattggg	1620
atcctctaga cccgggattt aaatcgctag cgggctgcta aaggaagcgg aacacgtaga	1680
aagccagtcc gcagaaaacgg tgctgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga	1740
caagggaaaaa cgcaagcgc aagagaaagc aggttagctt cagtggcctt acatggcgat	1800
agctagactg ggcgggttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct gggcgccct	1860
ctggtaaggt tgggaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttcttgcgc ccaaggatct	1920
gatggcgcag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcgaaa cgcatttttt	1980
aacaagatgg attgcacgca gtttctccgg ccttgggtt ggagaggcta ttccgtatg	2040
actgggcaca acagacaatc ggctgctctg atgcccgggt gttccggctg tcagcgcagg	2100
ggcgcgggt tcttttgtc aagaccgacc tgcgggtgc cctgaatgaa ctgcaggacg	2160
aggcagcgcg gctatcggtt ctggccacga cggcggttcc ttgcgcagct gtgcgtac	2220
ttgtcaactga agcgggaagg gactggctgc tattggcga agtgcgggg caggatctcc	2280
tgtcatctca ctttgctcct gcccggaaat tatccatcat ggctgatgca atgcggcgcc	2340
tgcatacgct tgatccggctt acctgccccat tcgaccacca agcggaaatcgatcgagc	2400
gagcacgtac tcggatggaa gcccggcttg tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc	2460
aggggctcgc gccggccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc ggcgcggcc gacggcgagg	2520
atctcgctgt gacccatggc gatgcctgt tgccaaat catggggaa aatggccgct	2580
tttctggatt catcgactgt ggccggctgg gtgtggcggc ccgttatcag gacatagcg	2640
tggctaccccg tgatattgct gaagagcttg gcggcgaatg ggctgaccgc ttccctcg	2700
tttacggtat cggcgctccc gattcgacgc gcatgcctt ctatgcctt cttgacgagt	2760
tcttctgagc gggactctgg gttcgaaat gaccgaccaa gcgcacggcc acctgcccattc	2820
acgagatttc gattccaccc cgcccttcta tgaaagggtt ggttcggaa tcgtttccg	2880
ggacgcccggc tggatgatcc tccagcgcgg ggtatctcatg ctggagttct tcgcacgc	2940
tagcggcgcc cggccggcc cgggtgtaaa taccgcacag atgcgtaaagg agaaaataacc	3000
gcacatcgacgc ctcttcgcgtt tcctcgctca ctgactcgct ggcgcggc gttccggctgc	3060
ggcgagcggtt atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata	3120

acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg	3180
cgttgcggc gttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct	3240
caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgaaa cccccctggaa	3300
gctccctcggt gcgcctcct gttccgaccc tgccgcttac cggataacctg tccgccttc	3360
tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt	3420
aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaacccccc cgttcagccc gaccgctgctg	3480
ccttatccgg taactatcggt cttgagtcca acccgtaag acacgactta tcgcccactgg	3540
cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggccgtgtc acagagttct	3600
tgaagtggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtac tgcgcctc	3660
tgaagccagt taccccgaa aaaagagttt gtagctctt atccggcaaa caaaccaccg	3720
ctggtagcggt tggtttttt gtttgcaggc agcagattac ggcggaaaa aaaggatctc	3780
aagaagatcc tttgatcttt tctacgggggt ctgacgctca gtggAACGAA aactcacgtt	3840
aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttac ctagatcctt ttaaaggccg	3900
gccgcggccg ccacccggcat tttctttgc gtttttattt gttactgtt aattgtcctt	3960
gttcaaggat gctgtcttgc acaacagatg tttcttgcc tttgatgttc agcagggaa	4020
tcggcgcaaa cggtgattgt ttgtctcggt agaattctt gttgtcata tagcttgtaa	4080
tcacgacatt gtttcccttc gtttgggtt cagcgaagtg tgtagtaagta aaggttacat	4140
cgttaggatc aagatccatt tttAACACAA ggccagtttt gttcagccggc ttgtatgggc	4200
cagttaaaga attagaaaca taaccaagca tgtaaatatc gtttagacgta atgcgtcaa	4260
tcgtcatttt tgatcccggtt gagtcagtga acaggtacca tttccgttc attttaaaga	4320
cgttcgcgcg ttcaatttca tctgttactg tgtagatgc aatcagccgtt ttcatcactt	4380
ttttcagtgt gtaatcatcg ttttagctaa tcataccggag agccgggtt gctactcag	4440
ccgtgcgttt ttatcgctt tgcagaagtt tttgacttc ttgacggaaag aatgatgtgc	4500
ttttccata gtagctttt gtaataaaag attcttgcctt ttggtagccaa tttcagtttc	4560
cagtgttgc ttcaaataact aagtattgtt ggcctttatc ttctacgttag tgaggatctc	4620
tcagcgtatg gttgcgcct gagctgttagt tgcccttcatc gatgaactgc tgtacat	4680
gatacggttt tccgtcaccg tcaaagattt attataatc ctctacaccg ttgatgtca	4740
aagagctgtc tgatgtatc acgttaactt gtgcagtgtt cagtgtttgt ttgcgtat	4800
gtttaccggaa gaaatcgtg tagaataaac ggatTTTCC gtcagatgtaa atgtggctg	4860
aacccgtacca ttcttgcgtt tggctttta ggatagaatc atttgcacgtc aatttgcgc	4920
tgtctttaaa gacgcggccaa gcgttttcc agctgtcaat agaagttcg ccgactttt	4980

gatagaacat gtaaatcgat gtgtcatccg catttttagg atctccggct aatgcaaaga	5040
cgtatgtggta gccgtgatac tttgcgacag tgccgtcagc gttttgtaat ggccagctgt	5100
cccaaacgtc caggccttt gcagaagaga tatttttaat tgtggacgaa tcaaattcag	5160
aaaccttgcata tttttcattt ttttgcgtt cagggatttg cagcatatca tggcgtgtaa	5220
tatggaaaat gccgtatgtt tccttatatg gctttggtt cgtttcttc gcaaacgctt	5280
gagttgcgcc tcctgccagc agtgcggtag taaaggtaa tactgttgc tgtttgcaa	5340
actttttgat gttcatcggtt catgtctcct tttttatgta ctgtgttagc ggtctgcttc	5400
ttccagccct cctgtttgaa gatggcaagt tagttacgca caataaaaaa agacctaaaa	5460
tatgttaaggg gtgacgcca agtatacact ttgccctta cacattttag gtcttgccctg	5520
ctttatcagt aacaaacccg cgcgatttac tttcgacct cattctatta gactctcggt	5580
tggattgcaa ctggtctatt ttccctttt gtttgataga aaatcataaa aggatttgca	5640
gactacgggc ctaaagaact aaaaaatcta tctgtttctt ttcattctct gtattttta	5700
tagtttctgt tgcattggca taaagttgcc ttttaatca caattcagaa aatatcataa	5760
tatctcattt cactaaataa tagtgaacgg caggtatatg tgatgggtta aaaaggatcg	5820
gcggccgctc gatttaaatc tcgagaggcc tgacgtcggg	5860

<210> 75

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR primer

<400> 75

gagactcgag gtagacttta aaccatatt ag

32

<210> 76

<211> 29

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: PCR primer

<400> 76
gaagtctaga ttagcgaata gcgtcggtgg 29

<210> 77

<211> 6142

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 77		
tcgaggtaga ctttaaaccc atattagagg gtgggggcgc agctaagcca agagctaaga	60	
aaactagggg acatagtggt atcgacgctg ttcaataacg gcaacctaca gtaaaaatga	120	
ataaaaattcc tcaaggtggc aatattcttc aattttccca taaaatacgc ccgtatgtct	180	
gcacaaccgc tacctgctgc gtatcagcgc acaatcacccg atgtcatttc catgccaaca	240	
ccggggccagg ttccgttttc tgttagagttt atgccgcccc gagatgaggc agcagaagag	300	
cgactctgga aagccgcccga agcatttcac gacttaggag cctctttgt ctccgttact	360	
tatggtgcaag gcggatctag ccgcgcgcgc acaatgcgtg tcgcgcacaa gctttctcg	420	
catccgttga ccacgctcg tcatctcacg cttgtggAAC acacccaaaga agaatttagaa	480	
gaaattctgt gcacttatgc gtccccacggg ttgtcttaact tacttgccctt gcgaggcgat	540	
ccccctggca ctgacccgat ggctccgtgg gtccctaccc caggcggccct agattatgcc	600	
aaagatttga tcgacctcg tgcgcacact gagcagaccc cgcactttca ggttaggaatt	660	
gctagttcc cagaagggca ctaccgagcg cctagcattt aggcggatac gcaatttaca	720	
ttggaaaagc tgcgagctgg cgcaagattt tcgattaccc agatgtttt tgatgtcgat	780	
cactatttac gactgcgaga tcgcttggtt aaggcggatc ctgaacatgg atcaaagccg	840	
atcatcccg gacttatgcc cattaccagc ttgaggtcgg ttctgtaggca gatgaaatta	900	
gcaggtgcca cttgcctaa ggcttagaa aaacggcttc tcgacgcgc ggcggcgat	960	
gaggaagctc atcgccgcga tattcgaaa gtaggaatcg aagtcactac tgagatggca	1020	
cagcgtctta tttctgaagg gatcccgac atccatttca tgaccatgaa ttatgttcga	1080	
gcgacccaag aagtactcca taatctcgcc atggcgcccc cgtggggAAC acagcaaggc	1140	
cacgacgcta ttgcataatc tagacccggg attaaatcg ctgcgggct gctaaaggaa	1200	
gcggAACACG tagaaagcca gtccgcagaa acggtgctga ccccgatga atgtcagcta	1260	

ctgggctatc tggacaaggg aaaacgcaga cgcaaagaga aagcaggtag cttgcagtgg	1320
gcttacatgg cgatagctag actggcggt tttatggaca gcaagcgAAC cggaattgcc	1380
agctgggcg ccctctggta aggttggaa gccctgcaaa gtaaactgga tggcttctt	1440
gccgccaagg atctgatggc gcaggggatc aagatctgat caagagacag gatgaggatc	1500
gttgcgtatg attgaacaag atggattgca cgcaggTTCT ccggccgCTT gggtggagag	1560
gctattcggc tatgactggg cacaacagac aatcggtgc tctgatgccc ccgtgttccg	1620
gctgtcagcg caggggcGCC cggttCTTT tgtcaagacc gacctgtccg gtgcCCTGAA	1680
tgaactgcag gacgaggcag cgccgtatc gtggctggcc acgacgggcg ttCCttGCc	1740
agctgtgCTC gacgttGTCA ctgaagcggg aaggactgg ctgCTATTGG gcgaagtGCC	1800
ggggcaggat ctccTGTcat ctCACCTGc tcctGCCAG aagtATCCA tcatggCTGA	1860
tgcaatgcgg cggctgcata cgcttGATCC ggctACCTGc ccattCGACC accaAGCGAA	1920
acatcgcatc gagcgagcac gtactcgat ggaagccggT cttgtcgatc aggatgatct	1980
ggacgaagag catcaggGGC tcgcGCCAGC cgaactgttc GCCAGGCTCA aggCGCGCAT	2040
gcccgaeggc gaggatCTCG tcgtgACCCa tgccgatGCC tgCTTGCAG aTATCATGGT	2100
ggaaaatggc cgCTTTCTG gattcatcGA ctgtggccgg ctgggtgtgg cggaccgcta	2160
tcaggacata ggttggcta cccgtatGAT tgctgaagag cttggcggcg aatgggCTGA	2220
ccgcttcCTC gtgCTTAcG gtatcgccgc tcccGATTG cagcgcATCG CCTTCTATCG	2280
cTTCTTGAC gagTTCTTCT GAGCGGGACT CTGGGGTTCG aaatGACCGA CCAAGCGACG	2340
cccaacCTGC catcacgaga ttTCGATTCC accGCCGCT tCTATGAAAG GTTGGGCTTC	2400
ggaatcgTTT tccgggacgc cggctggatG atccTCCAGe gccccggatct catgtggag	2460
ttCTTcGCC ACGCTAGCGG CGCGCCGGCC ggcccGGTGT gaaataccgc acagatgcgt	2520
aaggagaaaa tacCGcatca ggcgttCCe cgCTTCTCG CTCACTGACT CGCTGEGCTC	2580
ggTCGTTcGG ctgcggcGAG CGGTATCAGe TCACTCAAAG GCGGTAATAc ggTTATCCAC	2640
agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagaaaa ggccAGCAAA aggCCAGGAA	2700
ccgtaaaaAG gcccGCTTGC tggcgtttt ccataGGCTC CGCCCCCTG acgAGCATCA	2760
caaaaatcGA CGCTCAAGTC AGAGGTGGCG AAACCCGACA GGACTATAAA GATAccAGGC	2820
gttccccCT ggaagCTCCC tcgtgcGCTC tcctgttCCG accCTGCCGc ttaccggata	2880
cctgtccGCC ttTCTCCCTT CGGGAAGCGT ggCGCTTCT CATAGCTCAC GCTGTAGGTA	2940
tctcAGTTcG GTGTagGTcG ttCGCTCCAA GCTGGGCTGT GTGcacGAAc CCCCGTTCA	3000
ccccGACCGC TGCGCCTTAT CCggtaACTA tcgtCTTGAG TCCAACCCGG TAAGACACGA	3060

cttatcgcca ctggcagcag ccactggtaa caggattgc agagcgaggt atgttaggcgg 3120
tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac actagaagga cagtattttgg 3180
tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cgaaaaaaga gttggtagct cttgatccgg 3240
caaacaaaacc accgctggta gcgggtggttt ttttggttgc aagcagcaga ttacgcgcag 3300
aaaaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg gggctgtacg ctcagtggaa 3360
cgaaaaactca cgtaaggga ttttggtcat gagattatca aaaaggatct tcacctagat 3420
cctttaaag gccggccgcg gccgcgcaaa gtcccgcttc gtgaaaattt tcgtgccgcg 3480
tgattttccg caaaaaactt taacgaacgt tcgttataat ggtgtcatga cttcacgac 3540
gaagtactaa aattggcccg aatcatcagc tatggatctc tctgtatgtcg cgctggagtc 3600
cgacgcgctc gatgctgcgc tgatTTaaa aacggtgatc ggatTTTcc gagctctcga 3660
tacgacggac gcgcgcagcat cacgagactg ggccagtgcc gcgcgcgacc tagaaactct 3720
cgtggcggat cttgaggagc tggctgcga gctgcgtgtc cggccagcgc caggaggacg 3780
cacagtagtg gaggatgcaa tcagttgcgc ctactgcggt ggcctgattc ctccccggcc 3840
tgacccgcga ggacggcgcg caaaatattt ctcagatgcg tgcgtgcgc cagccagccg 3900
cgagcgcgcc aacaaacgcc acgccgagga gctggaggcg gctaggtcgc aaatggcgt 3960
ggaagtgcgt cccccgagcg aaattttggc catggctgc acagagctgg aagcggcagc 4020
gagaattatc gcgatcgtgg cggtgcccgc aggcatgaca aacatcgtaa atgcccgcgtt 4080
tcgtgtgcgc tggccgcaca ggacgtgtca gcgcgcac cacctgcacc gaatggcag 4140
cagcgtcgcg cgtcgaaaaa gcgcacaggc ggcaagaagc gataagctgc acgaataacct 4200
aaaaaatgtt gaacgccccg tgagcggtaa ctcacaggc gtcggctaac ccccaagtcca 4260
aacctggag aaagcgctca aaaatgactc tagcggattc acgagacatt gacacaccgg 4320
cctggaaatt ttccgcgtat ctgttcgaca cccatcccga gctcgcgtc cgatcacgt 4380
gctggacgag cgaagaccgc cgcaatttc tcgctcacct gggcagagaa aattttccagg 4440
gcagcaagac cccgcacttc gccagcgctt ggatcaaaga cccggacacg gagaaacaca 4500
gccgaagtta taccgagttg gttcaaaatc gcttgcggc tgccagttatg ttgctctgac 4560
gcacgcgcag cacgcagccg tgcttgcct ggacattgtat gtcgcgcacc accaggccgg 4620
cgggaaaatc gagcacgtaa accccgaggt ctacgcgatt ttggagcgct gggcacgcct 4680
ggaaaaagcg ccagcttggc tcggcgtgaa tccactgagc gggaaatgcc agctcatctg 4740
gctcattgtat cccgtgtatc cccgcagcagg catgagcagc ccgaatatgc gcctgctggc 4800
tgcaacgcacc gaggaaatga cccgcgtttt cggcgctgac caggctttt cacataggct 4860
gagccgtggc cactgcactc tccgacgatc ccagccgtac cgctggcatg cccagcaca 4920

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

tcgcgtggat cgccctagctg atcttatgga ggttgctcgc atgatctcag gcacagaaaa 4980
acctaataaaa cgctatgagc aggagtttc tagcggacgg gcacgtatcg aagcggcaag 5040
aaaagccact gcggaagcaa aagcaattgc cacgcttgaa gcaaggctgc cgagcgccgc 5100
tgaagcgtct ggagagctga tcgacggcgt ccgtgtcctc tggactgtc cagggcgtgc 5160
cgccccgtgat gagacggctt ttgcacacgc tttgactgtg ggataccagt taaaagcggc 5220
tggtgagcgc ctaaaagaca ccaagggtca tcgagcctac gagegtgcct acaccgtcgc 5280
tcagggcggtc ggaggaggcc gtgagcctga tctgccgccc gactgtgacc gccagacgga 5340
ttggccgcga cgtgtgcgcg gctacgtcgc taaaggccag ccagtcgtcc ctgctcgtca 5400
gacagagacg cagagccagc cgaggcgaaa agctctggcc actatggaa gacgtggcgg 5460
taaaaaggcc gcagaacgct ggaaagaccc aaacagttag tacgcccag cacagcgaga 5520
aaaactagct aagtccagtc aacgacaagc taggaaagct aaaggaaatc gcttgaccat 5580
tgcaggttgg tttatgactg ttgagggaga gactggctcg tggccgacaa tcaatgaagc 5640
tatgtctgaa tttagcgtgt cacgtcagac cgtaataga gcaacttaagg tctgcgggca 5700
ttgaacttcc acgaggacgc cgaaagcttc ccagtaaatg tgccatctcg taggcagaaa 5760
acggttcccc cgtagggctt ctctcttggc ctcctttcta ggtcgggctg attgctttg 5820
aagctctcta gggggcgtca caccataggc agataacgtt ccccacccggc tcgcctcgta 5880
agcgcacaag gactgctccc aaagatcttca aaagccactg ccgcgactgc ctgcgcgaag 5940
ccttgcggcc cgaaaatttc ctccacccgag ttctgtgcaca cccctatgcc aagcttctt 6000
caccctaaat tcgagagatt ggattcttac cgtggaaatt ctgcacaaaa atcgccccct 6060
gategcctt gcgacgttgg cgtcggtgcc gctggttgcg cttgggttga ccgacttgat 6120
cagcggccgc tcgatTTAAA tc 6142

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)